

Deutsches Patent- und Markenamt · 80297 München

Carl Zeiss Jena GmbH

Ihr Zeichen: rj-p-hp 7458 DE

07740 Jena

**Bitte Aktenzeichen und Anmelder bei  
allen Eingaben und Zahlungen angeben**Zutreffendes ist angekreuzt ☒ und/oder aus ausgefüllt**Ergebnis einer Druckschriftenermittlung**

Auf den Antrag des

wirksam am 08.08.2000 gemäß ☒ § 43 Patentgesetz ☐ § 7 Gebrauchsmustergesetz

sind die auf den beigefügten Anlagen angegebenen öffentlichen Druckschriften ermittelt worden.

Ermittelt wurde in folgenden Patentklassen:

Klasse/Gruppe	Prüfer	Patentabt.
G02B 21/00	Dr.Hierl	42

Die Recherche-im Deutschen Patent- und Markenamt stützt sich auf die Patentliteratur folgender Länder und Organisationen:

Deutschland (DE,DD), Österreich, Schweiz, Frankreich, Großbritannien, USA, Japan (Abstracts),  
UDSSR (Abstracts), Europäisches Patentamt, WIPO.

Recherchiert wurde außerdem in folgenden Datenbanken:

**Anlagen:**

Anlagen 1, 2 und 3 zur Mitteilung der ermittelten Druckschriften

**Patentabteilung 11**

Recherchen-Leitstelle

2 Druckschrift(en) bzw. Ablichtung(en)P 2251  
05/99  
06.95Annahmestelle und  
Nachbriefkasten  
nur  
Zweibrückenstraße 12Dienstgebäude  
Zweibrückenstraße 12 (Hauptgebäude)  
Zweibrückenstraße 5-7 (Breiterhof)  
Cincinnatistraße 64  
Rosenheimer Straße 116  
Balanstraße 59Hausadresse (für Fracht)  
Deutsches Patent- und Markenamt  
Zweibrückenstraße 12  
80331 MünchenTelefon (089) 2195-0  
Telefax (089) 2195-2221Bank: Landeszentralbank München 700 010 54  
(BLZ 700 000 00)Internet-Adresse <http://www.patent-und-markenamt.de>Schnellbahnanschluß im  
Münchner Verkehrs- und  
Tarifverbund (MVV):Zweibrückenstraße 12 (Hauptgebäude),  
Zweibrückenstraße 5-7 (Breiterhof);  
S1 - S8 Isartor

Rosenheimer Str. 116 / Balanstraße 59

Alle S-Bahnen Richtung Ostbahnhof, ab Ostbahnhof Buslinien  
45 / 95 / 96 / 198 Haltestelle KustermannparkCincinnatistraße 64  
S2 Fasangarten Bus 98 oder 99

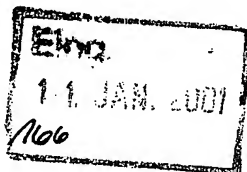
**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Deutsches Patent- und Markenamt · 80297 München

Carl Zeiss Jena GmbH

Ihr Zeichen: rj-p-hp 7458 DE

07740 Jena

Bitte Aktenzeichen und Anmelder bei  
allen Eingaben und Zahlungen angebenZutreffendes ist angekreuzt ☒ und/oder aus ausgefüllt**Ergebnis einer Druckschriftenermittlung**

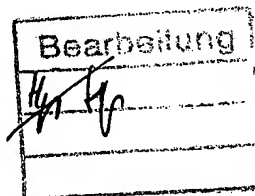
Auf den Antrag des

wirksam am 08.08.2000 gemäß ☒ § 43 Patentgesetz ☐ § 7 Gebrauchsmustergesetz

sind die auf den beigefügten Anlagen angegebenen öffentlichen Druckschriften ermittelt worden.

Ermittelt wurde in folgenden Patentklassen:

Klasse/Gruppe	Prüfer	Patentabt.
G02B 21/00	Dr.Hierl	42



Die Recherche im Deutschen Patent- und Markenamt stützt sich auf die Patentliteratur folgender Länder und Organisationen:

Deutschland (DE,DD), Österreich, Schweiz, Frankreich, Großbritannien, USA, Japan (Abstracts),  
UDSSR (Abstracts), Europäisches Patentamt, WIPO.

Recherchiert wurde außerdem in folgenden Datenbanken:

**Anlagen:**

Anlagen 1, 2 und 3 zur Mitteilung der ermittelten Druckschriften

**Patentabteilung 11**  
**Recherchen-Leitstelle**2 Druckschrift(en) bzw. Ablichtung(en)P 2251  
05/99  
06.95Annahmestelle und  
Nachbriefkasten  
nur  
Zweibrückenstraße 12Dienstgebäude  
Zweibrückenstraße 12 (Hauptgebäude)  
Zweibrückenstraße 5-7 (Breiterhof)  
Cincinnatistraße 64  
Rosenheimer Straße 116  
Balanstraße 59Hausadresse (für Fracht)  
Deutsches Patent- und Markenamt  
Zweibrückenstraße 12  
80331 MünchenTelefon (089) 2195-0  
Telefax (089) 2195-2221Bank: Landeszentralbank München 700 010 54  
(BLZ 700 000 00)Internet-Adresse <http://www.patent-und-markenamt.de>Schnellbahnschluß im  
Münchner Verkehrs- und  
Tarifverbund (MVV):Zweibrückenstraße 12 (Hauptgebäude),  
Zweibrückenstraße 5-7 (Breiterhof):  
S1 - S8 IsartorRosenheimer Str. 116 / Balanstraße 59  
Alle S-Bahnen Richtung Ostbahnhof, ab Ostbahnhof Buslinien  
45 / 95 / 96 / 198 Haltestelle KustermannparkCincinnatistraße 64  
S2 Fasangarten Bus 98 oder 99

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

100 38 527.3

Deutsches Patent- und Markenamt · 80297 München

Anlage 1

zur Mitteilung über die ermittelten Druckschriften  
gemäß § 43 des Patentgesetzes

Druckschriften:

DE 41 29 796 A1

DE 34 13 605 A1

**Bitte Anmelder/Inhaber + Aktenzeichen bei allen Eingaben angeben; bei Zahlungen auch Verwendungszweck. Hinweise auf der Rückseite beachten !**Annehmestelle und  
Nachbriefkasten  
nur  
Zweibrückenstr. 12Dienstgebäude  
Zweibrückenstr. 12 (Hauptgebäude)Hausadresse (für Fracht)  
Deutsches Patent- und Markenamt  
Zweibrückenstr. 12  
80331 MünchenTelefon (089) 2195-0  
Telefax (089) 2195-2221  
Internet:  
<http://www.patent-und-markenamt.de>Bankverbindung  
Landeszentralbank München  
700 010 54 (BLZ 700 000 00)

## Zahlungshinweise

1. Die **Gebühren** können außer durch Barzahlung entrichtet werden:
  - a) durch Übergabe oder Übersendung
    - von Gebührenmarken des Deutschen Patent- und Markenamts,
    - von Schecks, die auf ein Kreditinstitut in der Bundesrepublik Deutschland gezogen sind und nicht mit Indossament versehen sind,
    - eines Auftrags zur Abbuchung von dem hierfür zugelassenen Abbuchungskonto gemäß Bekanntmachung des Präsidenten des Deutschen Patent- und Markenamts (siehe Mitteilungen Nr. 1 und 2/90 vom 15. Dezember 1989, Bl.f.PMZ 1990, S. 1 f.; Nr. 6/92 vom 27. Februar 1992, Bl.f.PMZ 1992, S. 177 f.),
  - b) durch Überweisung auf das umseitig angegebene Konto der Zahlstelle,
  - c) durch Bareinzahlung (mit Zahlschein bei der Postbank oder bei allen anderen Banken oder Sparkassen) auf das umseitig angegebene Konto der Zahlstelle.
2. Bei jeder Zahlung sind das vollständige **Aktenzeichen** und der Verwendungszweck in Form des **Gebührencodes**, der sich aus den Gebührenverzeichnissen aus der Anlage zu § 1 PatGebG oder aus der Anlage zu § 2 Abs. 1 DPMAVwKostV ergibt, anzugeben (Auszug s.u." ).  
Unkorrekte bzw. unvollständige Angaben führen zu Verzögerungen in der Bearbeitung.
3. **Als Einzahlungstag** gilt gemäß § 3 der Verordnung über die Zahlung der Gebühren des Deutschen Patent- und Markenamts und des Bundespatentgerichts
  - a) bei Übergabe oder Übersendung von Gebührenmarken der Tag des Eingangs;
  - b) bei Übergabe oder Übersendung von Schecks oder Abbuchungsaufträgen der Tag des Eingangs beim Deutschen Patent- und Markenamt oder Bundespatentgericht, sofern die Einlösung bei Vorlage erfolgt (da Abbuchungsaufträge auch per Telekopie wirksam übermittelt werden können, ist es mit dieser Zahlungsart möglich, entsprechende Zahlungen noch bis 24.00 Uhr des letzten Tages der Frist vorzunehmen);
  - c) bei Bareinzahlung mit Zahlschein bei der Postbank und allen anderen Banken und Sparkassen auf das Konto des Deutschen Patent- und Markenamts der Tag der Einzahlung (in diesem Falle ist vom Einzahler jedoch darauf zu achten, dass ihm der Tag (Datum) der Einzahlung von dem Geldinstitut auf dem Einzahlungsbeleg, Durchschlag etc. hinreichend deutlich bestätigt wird);
  - d) im übrigen (insbesondere bei Überweisung) der Tag, an dem der Betrag bei der Zahlstelle des Deutschen Patent- und Markenamts eingeht oder auf dem umseitig genannten Konto gutgeschrieben wird.

## Gebrauchsmusterabzweigung

Der Anmelder einer nach dem 1. Januar 1987 mit Wirkung für die Bundesrepublik Deutschland eingereichten Patentanmeldung kann eine Gebrauchsmusteranmeldung, die den gleichen Gegenstand betrifft, einreichen und gleichzeitig den Anmeldetag der früheren Patentanmeldung in Anspruch nehmen. Diese Abzweigung (§ 5 Gebrauchsmustergesetz) ist bis zum Ablauf von 2 Monaten nach dem Ende des Monats möglich, in dem die Patentanmeldung durch rechtskräftige Zurückweisung, freiwillige Rücknahme oder Rücknahmefiktion erledigt, ein Einspruchsverfahren abgeschlossen oder - im Falle der Erteilung des Patents - die Frist für die Beschwerde gegen den Erteilungsbeschluss fruchtlos verstrichen ist. Ausführliche Informationen über die Erfordernisse einer Gebrauchsmusteranmeldung, einschließlich der Abzweigung, enthält das Merkblatt für Gebrauchsmusteranmelder (G 6181), welches kostenlos beim Deutschen Patent- und Markenamt und den Patentinformationszentren erhältlich ist.

### Gebührencodes für Patentsachen:

Gebühren-code	Gebühr bzw. Auslagen	Gebühren-code	Gebühr bzw. Auslagen
111 100	Anmeldegebühr	112 107	Patentjahresgebühr für das 7. Patentjahr
111 201	Rechercheantragsgebühr	112 108	Patentjahresgebühr für das 8. Patentjahr
102 010	Auslagen für Abschriften aller ermittelten Druckschriften im Rechercheverfahren	112 109	Patentjahresgebühr für das 9. Patentjahr
111 301	Prüfungsantragsgebühr, wenn ein Rechercheantrag gestellt worden ist	112 110	Patentjahresgebühr für das 10. Patentjahr
111 302	Prüfungsantragsgebühr, wenn ein Rechercheantrag nicht gestellt worden ist	112 111	Patentjahresgebühr für das 11. Patentjahr
102 020	Auslagen für Abschriften aller ermittelten Druckschriften im Prüfungsverfahren	112 112	Patentjahresgebühr für das 12. Patentjahr
111 500	Erteilungsgebühr	112 113	Patentjahresgebühr für das 13. Patentjahr
112 103	Patentjahresgebühr für das 3. Patentjahr	112 114	Patentjahresgebühr für das 14. Patentjahr
112 104	Patentjahresgebühr für das 4. Patentjahr	112 115	Patentjahresgebühr für das 15. Patentjahr
112 105	Patentjahresgebühr für das 5. Patentjahr	112 116	Patentjahresgebühr für das 16. Patentjahr
112 106	Patentjahresgebühr für das 6. Patentjahr	112 117	Patentjahresgebühr für das 17. Patentjahr
		112 118	Patentjahresgebühr für das 18. Patentjahr
		112 119	Patentjahresgebühr für das 19. Patentjahr
		112 120	Patentjahresgebühr für das 20. Patentjahr

Anlage 2

zur Mitteilung der ermittelten Druckschriften

Aktenzeichen

100 38 527.3

Erläuterungen zu den ermittelten Druckschriften:		
1	2	3
Kategorie	Ermittelte Druckschriften/Erläuterungen	Betrifft Anspruch
A	siehe Entgegenhaltungen auf Anlage 1;	

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



**Anlage 2**

zur Mitteilung der ermittelten Druckschriften

Aktenzeichen

100 38 527.3

Erläuterungen zu den ermittelten Druckschriften:		
1	2	3
Kategorie	Ermittelte Druckschriften/Erläuterungen	Betrifft Anspruch
A	siehe Entgegenhaltungen auf Anlage 1;	

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**Hinweise zur Mitteilung (Vordruck P 2251)**

Eine Gewähr für die Vollständigkeit der Ermittlung wird nicht geleistet (§ 43 Abs. 7 Patentgesetz bzw. § 7 Abs. 2 Gebrauchsmustergesetz i.V.m. § 43 Abs. 7 Satz 1 Patentgesetz).

Die angegebene Patentliteratur kann in den Auslegehallen des Deutschen Patent- und Markenamts, 80331 München, Zweibrückenstraße 12, oder 10969 Berlin, Gitschiner Str. 97 eingesehen werden; deutsche Patentschriften, Auslegeschriften und Offenlegungsschriften auch in den Patentinformationszentren. Ein Verzeichnis über diese Patentinformationszentren kann auf Wunsch vom Deutschen Patent- und Markenamt sowie von einigen Privatfirmen bezogen werden.

**Erklärungen zur Anlage 2 (Vordruck P 2253)****Spalte 1: Kategorie**

Es bedeutet:

- X:** Druckschriften, die Neuheit oder Erfindungshöhe allein in Frage stellen
- Y:** Druckschriften, die die Erfindungshöhe zusammen mit anderen Druckschriften in Frage stellen
- A:** Allgemein zum Stand der Technik, technologischer Hintergrund
- O:** Nicht-schriftliche Offenbarung, z.B. ein in einer nachveröffentlichten Druckschrift abgedruckter Vortrag, der vor dem Anmelde- oder Prioritätstag öffentlich gehalten wurde
- P:** Im Prioritätsintervall veröffentlichte Druckschriften
- T:** Nachveröffentlichte, nicht kollidierende Druckschriften, die die Theorie der angemeldeten Erfindung betreffen und für ein besseres Verständnis der angemeldeten Erfindung nützlich sein können bzw. zeigen, daß der angemeldeten Erfindung zugrunde liegende Gedankengänge oder Sachverhalte falsch sein könnten
- E:** Ältere Anmeldungen gemäß § 3 Abs. 2 PatG (bei Recherchen nach § 43 PatG); ältere Patentanmeldungen oder ältere Gebrauchsmuster gemäß § 15 GbmG (bei Recherchen nach § 7 GbmG)
- D:** Druckschriften, die bereits in der Patentanmeldung genannt sind
- L:** Aus besonderen Gründen genannte Druckschriften, z.B. zum Veröffentlichungstag einer Entgegnung oder bei Zweifeln an der Priorität.

**Spalte 2: Ermittelte Druckschriften / Erläuterungen**

**Veröff.:** Veröffentlichungstag einer Druckschrift im Prioritätsintervall

**nr:** Nicht recherchiert, da allgemein bekannter Stand der Technik, oder nicht recherchierbar

**=:** Druckschriften, die auf dieselbe Ursprungsanmeldung zurückgehen ("Patentfamilien") oder auf die sich Referate oder Abstracts beziehen.

**"-":** Nichts ermittelt

**Spalte 3: Betroffene Ansprüche**

Hier sind die Ansprüche unter Zuordnung zu den in Spalte 2 genannten relevanten Stellen angegeben.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

**Hinweise zur Mitteilung (Vordruck P 2251)**

Eine Gewähr für die Vollständigkeit der Ermittlung wird nicht geleistet (§ 43 Abs. 7 Patentgesetz bzw. § 7 Abs. 2 Gebrauchsmustergesetz i.V.m. § 43 Abs. 7 Satz 1 Patentgesetz).

Die angegebene Patentliteratur kann in den Auslegehallen des Deutschen Patent- und Markenamts, 80331 München, Zweibrückenstraße 12, oder 10969 Berlin, Gitschiner Str. 97 eingesehen werden; deutsche Patentschriften, Auslegeschriften und Offenlegungsschriften auch in den Patentinformationszentren. Ein Verzeichnis über diese Patentinformationszentren kann auf Wunsch vom Deutschen Patent- und Markenamt sowie von einigen Privatfirmen bezogen werden.

**Erklärungen zur Anlage 2 (Vordruck P 2253)****Spalte 1: Kategorie**

Es bedeutet:

- X:** Druckschriften, die Neuheit oder Erfindungshöhe allein in Frage stellen
- Y:** Druckschriften, die die Erfindungshöhe zusammen mit anderen Druckschriften in Frage stellen
- A:** Allgemein zum Stand der Technik, technologischer Hintergrund
- O:** Nicht-schriftliche Offenbarung, z.B. ein in einer nachveröffentlichten Druckschrift abgedruckter Vortrag, der vor dem Anmelde- oder Prioritätstag öffentlich gehalten wurde
- P:** Im Prioritätsintervall veröffentlichte Druckschriften
- T:** Nachveröffentlichte, nicht kollidierende Druckschriften, die die Theorie der angemeldeten Erfindung betreffen und für ein besseres Verständnis der angemeldeten Erfindung nützlich sein können bzw. zeigen, daß der angemeldeten Erfindung zugrunde liegende Gedankengänge oder Sachverhalte falsch sein könnten
- E:** Ältere Anmeldungen gemäß § 3 Abs. 2 PatG (bei Recherchen nach § 43 PatG); ältere Patentanmeldungen oder ältere Gebrauchsmuster gemäß § 15 GbmG (bei Recherchen nach § 7 GbmG)
- D:** Druckschriften, die bereits in der Patentanmeldung genannt sind
- L:** Aus besonderen Gründen genannte Druckschriften, z.B. zum Veröffentlichungstag einer Entgeghaltung oder bei Zweifeln an der Priorität.

**Spalte 2: Ermittelte Druckschriften / Erläuterungen**

**Veröff.:** Veröffentlichungstag einer Druckschrift im Prioritätsintervall

**nr:** Nicht recherchiert, da allgemein bekannter Stand der Technik, oder nicht recherchierbar

**=:** Druckschriften, die auf dieselbe Ursprungsanmeldung zurückgehen ("Patentfamilien") oder auf die sich Referate oder Abstracts beziehen.

**":":** Nichts ermittelt

**Spalte 3: Betroffene Ansprüche**

Hier sind die Ansprüche unter Zuordnung zu den in Spalte 2 genannten relevanten Stellen angegeben.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

100 38 527.3

Deutsches Patent- und Markenamt · 80297 München

## Anlage 1

zur Mitteilung über die ermittelten Druckschriften  
gemäß § 43 des Patentgesetzes

## Druckschriften:

DE 41 29 796 A1

DE 34 13 605 A1

**Bitte Anmelder/Inhaber + Aktenzeichen bei allen Eingaben angeben; bei Zahlungen auch Verwendungszweck. Hinweise auf der Rückseite beachten !**

<b>Annahmestelle und Nachbriefkasten nur Zweibrückenstr. 12</b>	<b>Dienstgebäude Zweibrückenstr. 12 (Hauptgebäude)</b>	<b>Heusadresse (für Fracht) Deutsches Patent- und Markenamt Zweibrückenstr. 12 80331 München</b>	<b>Telefon (089) 2195-0 Telefax (089) 2195-2221 Internet: <a href="http://www.patent-und-markenamt.de">http://www.patent-und-markenamt.de</a></b>	<b>Bankverbindung Landeszentralbank München 700 010 54 (BLZ 700 000 00)</b>
---	--	--	---	---

## Zahlungshinweise

1. Die **Gebühren** können außer durch Barzahlung entrichtet werden:
  - a) durch Übergabe oder Übersendung
    - von Gebührenmarken des Deutschen Patent- und Markenamts,
    - von Schecks, die auf ein Kreditinstitut in der Bundesrepublik Deutschland gezogen sind und nicht mit Indossament versehen sind,
    - eines Auftrags zur Abbuchung von dem hierfür zugelassenen Abbuchungskonto gemäß Bekanntmachung des Präsidenten des Deutschen Patent- und Markenamts (siehe Mitteilungen Nr. 1 und 2/90 vom 15. Dezember 1989, Bl.f.PMZ 1990, S. 1 f.; Nr. 6/92 vom 27. Februar 1992, Bl.f.PMZ 1992, S. 177 f.);
  - b) durch Überweisung auf das umseitig angegebene Konto der Zahlstelle,
  - c) durch Bareinzahlung (mit Zahlschein bei der Postbank oder bei allen anderen Banken oder Sparkassen) auf das umseitig angegebene Konto der Zahlstelle.
2. Bei jeder Zahlung sind das vollständige **Aktenzeichen** und der Verwendungszweck in Form des **Gebührencodes**, der sich aus den Gebührenverzeichnissen aus der Anlage zu § 1 PatGebG oder aus der Anlage zu § 2 Abs. 1 DPMaVwKostV ergibt, anzugeben (Auszug s.u.).  
Unkorrekte bzw. unvollständige Angaben führen zu Verzögerungen in der Bearbeitung.
3. Als **Einzahlungstag** gilt gemäß § 3 der Verordnung über die Zahlung der Gebühren des Deutschen Patent- und Markenamts und des Bundespatentgerichts
  - a) bei Übergabe oder Übersendung von Gebührenmarken der Tag des Eingangs;
  - b) bei Übergabe oder Übersendung von Schecks oder Abbuchungsaufträgen der Tag des Eingangs beim Deutschen Patent- und Markenamt oder Bundespatentgericht, sofern die Einlösung bei Vorlage erfolgt (da Abbuchungsaufträge auch per Telekopie wirksam übermittelt werden können, ist es mit dieser Zahlungsart möglich, entsprechende Zahlungen noch bis 24.00 Uhr des letzten Tages der Frist vorzunehmen);
  - c) bei Bareinzahlung mit Zahlschein bei der Postbank und allen anderen Banken und Sparkassen auf das Konto des Deutschen Patent- und Markenamts der Tag der Einzahlung (in diesem Falle ist vom Einzahler jedoch darauf zu achten, dass ihm der Tag (Datum) der Einzahlung von dem Geldinstitut auf dem Einzahlungsbeleg, Durchschlag etc. hinreichend deutlich bestätigt wird);
  - d) im übrigen (insbesondere bei Überweisung) der Tag, an dem der Betrag bei der Zahlstelle des Deutschen Patent- und Markenamts eingeht oder auf dem umseitig genannten Konto gutgeschrieben wird.

## Gebrauchsmusterabzweigung

Der Anmelder einer nach dem 1. Januar 1987 mit Wirkung für die Bundesrepublik Deutschland eingereichten Patentanmeldung kann eine Gebrauchsmusteranmeldung, die den gleichen Gegenstand betrifft, einreichen und gleichzeitig den Anmeldetag der früheren Patentanmeldung in Anspruch nehmen. Diese Abzweigung (§ 5 Gebrauchsmustergesetz) ist bis zum Ablauf von 2 Monaten nach dem Ende des Monats möglich, in dem die Patentanmeldung durch rechtskräftige Zurückweisung, freiwillige Rücknahme oder Rücknahmefiktion erledigt, ein Einspruchsverfahren abgeschlossen oder - im Falle der Erteilung des Patents - die Frist für die Beschwerde gegen den Erteilungsbeschluss fruchtlos verstrichen ist. Ausführliche Informationen über die Erfordernisse einer Gebrauchsmusteranmeldung, einschließlich der Abzweigung, enthält das Merkblatt für Gebrauchsmusteranmelder (G 6181), welches kostenlos beim Deutschen Patent- und Markenamt und den Patentinformationszentren erhältlich ist.

### 7 Gebührencodes für Patentsachen:

Gebühren-code	Gebühr bzw. Auslagen	Gebühren-code	Gebühr bzw. Auslagen
111 100	Anmeldegebühr	112 107	Patentjahresgebühr für das 7. Patentjahr
111 201	Rechercheantragsgebühr	112 108	Patentjahresgebühr für das 8. Patentjahr
102 010	Auslagen für Abschriften aller ermittelten Druckschriften im Rechercheverfahren	112 109	Patentjahresgebühr für das 9. Patentjahr
111 301	Prüfungsantragsgebühr, wenn ein Rechercheantrag gestellt worden ist	112 110	Patentjahresgebühr für das 10. Patentjahr
111 302	Prüfungsantragsgebühr, wenn ein Rechercheantrag nicht gestellt worden ist	112 111	Patentjahresgebühr für das 11. Patentjahr
102 020	Auslagen für Abschriften aller ermittelten Druckschriften im Prüfungsverfahren	112 112	Patentjahresgebühr für das 12. Patentjahr
111 500	Erteilungsgebühr	112 113	Patentjahresgebühr für das 13. Patentjahr
112 103	Patentjahresgebühr für das 3. Patentjahr	112 114	Patentjahresgebühr für das 14. Patentjahr
112 104	Patentjahresgebühr für das 4. Patentjahr	112 115	Patentjahresgebühr für das 15. Patentjahr
112 105	Patentjahresgebühr für das 5. Patentjahr	112 116	Patentjahresgebühr für das 16. Patentjahr
112 106	Patentjahresgebühr für das 6. Patentjahr	112 117	Patentjahresgebühr für das 17. Patentjahr
		112 118	Patentjahresgebühr für das 18. Patentjahr
		112 119	Patentjahresgebühr für das 19. Patentjahr
		112 120	Patentjahresgebühr für das 20. Patentjahr



10689 872

VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT  
AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS

PCT

INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

(Artikel 18 sowie Regeln 43 und 44 PCT)

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts	<b>WEITERES VORGEHEN</b>	siehe Mitteilung über die Übermittlung des internationalen Recherchenberichts (Formblatt PCT/ISA/220) sowie, soweit zutreffend, nachstehender Punkt 5
7458 PCT		
Internationales Aktenzeichen	Internationales Anmeldedatum (Tag/Monat/Jahr)	(Frühestes) Prioritätsdatum (Tag/Monat/Jahr)
PCT/EP 01/09049	04/08/2001	08/08/2000
Anmelder		
CARL ZEISS JENA GMBH		

Dieser internationale Recherchenbericht wurde von der internationalen Recherchenbehörde erstellt und wird dem Anmelder gemäß Artikel 18 übermittelt. Eine Kopie wird dem internationalen Büro übermittelt.

Dieser internationale Recherchenbericht umfaßt insgesamt 3 Blätter.

☒ Darüber hinaus liegt ihm jeweils eine Kopie der in diesem Bericht genannten Unterlagen zum Stand der Technik bei.

1. Grundlage des Berichts

- a. Hinsichtlich der **Sprache** ist die internationale Recherche auf der Grundlage der internationalen Anmeldung in der Sprache durchgeführt worden, in der sie eingereicht wurde, sofern unter diesem Punkt nichts anderes angegeben ist.
- ☐ Die internationale Recherche ist auf der Grundlage einer bei der Behörde eingereichten Übersetzung der internationalen Anmeldung (Regel 23.1 b)) durchgeführt worden.
- b. Hinsichtlich der in der internationalen Anmeldung offenbarten **Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenz** ist die internationale Recherche auf der Grundlage des Sequenzprotokolls durchgeführt worden, das
- ☐ in der internationalen Anmeldung in schriftlicher Form enthalten ist.
- ☐ zusammen mit der internationalen Anmeldung in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in schriftlicher Form eingereicht worden ist.
- ☐ bei der Behörde nachträglich in computerlesbarer Form eingereicht worden ist.
- ☐ Die Erklärung, daß das nachträglich eingereichte schriftliche Sequenzprotokoll nicht über den Offenbarungsgehalt der internationalen Anmeldung im Anmeldezeitpunkt hinausgeht, wurde vorgelegt.
- ☐ Die Erklärung, daß die in computerlesbarer Form erfaßten Informationen dem schriftlichen Sequenzprotokoll entsprechen, wurde vorgelegt.

2. ☐ Bestimmte Ansprüche haben sich als nicht recherchierbar erwiesen (siehe Feld I).

3. ☐ Mangelnde Einheitlichkeit der Erfindung (siehe Feld II).

4. Hinsichtlich der **Bezeichnung der Erfindung**

- ☒ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
- ☐ wurde der Wortlaut von der Behörde wie folgt festgesetzt:

5. Hinsichtlich der **Zusammenfassung**

- ☐ wird der vom Anmelder eingereichte Wortlaut genehmigt.
- ☒ wurde der Wortlaut nach Regel 38.2b) in der in Feld III angegebenen Fassung von der Behörde festgesetzt. Der Anmelder kann der Behörde innerhalb eines Monats nach dem Datum der Absendung dieses internationalen Recherchenberichts eine Stellungnahme vorlegen.

6. Folgende Abbildung der **Zeichnungen** ist mit der Zusammenfassung zu veröffentlichten: Abb. Nr. 1

- ☐ wie vom Anmelder vorgeschlagen ☐ keine der Abb.
- ☒ weil der Anmelder selbst keine Abbildung vorgeschlagen hat.
- ☐ weil diese Abbildung die Erfindung besser kennzeichnet.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

F Id III

WORTLAUT DER ZUSAMMENFASSUNG (Fortsetzung von Punkt 5 auf Blatt 1)

Die Erfindung betrifft eine Methode zur Erhöhung des Tiefenkontrasts bei der mikroskopischen Abbildung. Die dargestellte Methode und Realisierung kann als strukturierte Beleuchtung zur Erzeugung quasi-konfokaler optischer Schnitte bezeichnet werden. Bei der Realisierung der Methode werden eine Gitterstruktur, die sich in der Leuchtfeldblende eines Mikroskops befindet, die Objektebene und die TV-Zwischen-bildebene eines Mikroskops "konfokal" angeordnet. Durch diese Anordnung wird die Gitterstruktur in die Objektebene des Mikroskops projiziert und das derart strukturierte Objekt über die nachfolgende Optik in die TV-Zwischenbildebene des Mikroskops abgebildet. Durch Berechnung der Modulationstiefe des strukturierten Objekts werden optische Schnitte generiert. Eine 3-dimensionale Erfassung des Objekts wird dadurch realisiert, dass das Objekt in mehreren Schärfeebenen senkrecht zur Beobachtungsrichtung abgebildet und mittels Array-Detektor (z.B. CCD-Kamera) detektiert wird.

Vorrangig kann die hier dargestellte Methode und Realisierung der strukturierten Beleuchtung in der Reflexions- und Fluoreszenzmikroskopie eingesetzt werden.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 01/09049

A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES  
IPK 7 G02B21/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)  
IPK 7 G02B

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, PAJ

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 98 45745 A (WILSON TONY ; ISIS INNOVATION (GB); JUSKAITIS RIMVYDAS (GB); NEIL M) 15. Oktober 1998 (1998-10-15) abstract Seite 9, Zeile 20 -Seite 10, Zeile 11	1-8, 11-20
Y	Abbildung 1	9,10
Y	US 4 984 893 A (LANGE STEVEN R) 15. Januar 1991 (1991-01-15) Spalte 2, Zeile 50 -Spalte 3, Zeile 16 Abbildung 1	9,10
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1995, no. 09, 31. Oktober 1995 (1995-10-31) & JP 07 159324 A (SHIMADZU CORP), 23. Juni 1995 (1995-06-23) Zusammenfassung	9,10

☐ Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen

☒ Siehe Anhang Patentfamilie

- \* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :
- \*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- \*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- \*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- \*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- \*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

- \*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist
- \*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden
- \*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist
- \*Z\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

23. Januar 2002

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

05/02/2002

Name und Postanschrift der internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Luck, W

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 01/09049

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9845745	A	15-10-1998	AT 208911 T 15-11-2001
		AU 737617 B2 23-08-2001	
		AU 6926498 A 30-10-1998	
		DE 69802514 D1 20-12-2001	
		EP 0972220 A1 19-01-2000	
		WO 9845745 A1 15-10-1998	
		GB 2338858 A ,B 29-12-1999	
		JP 3066874 B2 17-07-2000	
		JP 2000506634 T 30-05-2000	
US 4984893	A	15-01-1991	NONE
JP 07159324	A	23-06-1995	NONE

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



**PCT****ANTRAG**

Der Unterzeichnete beantragt, daß die vorliegende internationale Anmeldung nach dem Vertrag über die internationale Zusammenarbeit auf dem Gebiet des Patentwesens behandelt wird.

Vom Anmeldeamt auszufüllen

**PCT/EP 01/09049**  
Internationales Aktenzeichen

**04 AUG 2001**  
Internationales Anmeldedatum

**(04.08.2001)**

**EUROPEAN PATENT OFFICE**  
**PCT INTERNATIONAL APPLICATION**  
Name des Anmeldeamts und "PCT International Application"

Aktenzeichen des Anmelders oder Anwalts (falls gewünscht)  
(max. 12 Zeichen) **7458 PCT**

**Feld Nr. I BEZEICHNUNG DER ERFINDUNG** "Anordnung zur Erhöhung der Tiefen-  
diskriminierung optisch abbildender Systeme"

**Feld Nr. II ANMELDER**

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

**Carl Zeiss Jena GmbH**  
**Carl-Zeiss-Promenade 10**

**07745 Jena**  
**DE**

☐ Diese Person ist  
gleichzeitig Erfinder

Telefonnr.:  
(03641) 64-2388

Telefaxnr.:  
(03641) 64-2469

Fernschreibnr.:  
331545

Staatsangehörigkeit (Staat):  
**DE**

Sitz oder Wohnsitz (Staat):  
**DE**

Diese Person ist Anmelder  
für folgende Staaten:

☐ alle Bestim-  
mungsstaaten

☒ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme  
der Vereinigten Staaten von Amerika

☐ nur die Vereinigten  
Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld  
angegebenen Staaten

**Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER**

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)

**GERSTNER, Volker**  
**Sophienstr. 30**

**07743 Jena**  
**DE**

Diese Person ist:

☐ nur Anmelder

☒ Anmelder und Erfinder

☐ nur Erfinder (Wird dieses Kästchen  
angekreuzt, so sind die nachstehenden  
Angaben nicht nötig.)

Staatsangehörigkeit (Staat):  
**DE**

Sitz oder Wohnsitz (Staat):  
**DE**

Diese Person ist Anmelder  
für folgende Staaten:

☐ alle Bestim-  
mungsstaaten

☐ alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme  
der Vereinigten Staaten von Amerika

☒ nur die Vereinigten  
Staaten von Amerika

☐ die im Zusatzfeld  
angegebenen Staaten

☒ Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem Fortsetzungsblatt angegeben.

**Feld Nr. IV ANWALT ODER GEMEINSAMER VERTRETER; ODER ZUSTELLANSCHRIFT**

Die folgende Person wird hiermit bestellt/ist bestellt worden, um für den (die) Anmelder  
vor den zuständigen internationalen Behörden in folgender Eigenschaft zu handeln als:

☐ Anwalt

☐ gemeinsamer  
Vertreter

Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben.)

**Carl Zeiss Jena GmbH**  
**Carl-Zeiss-Promenade 10**

**07745 Jena DE**

Telefonnr.:  
(03641) 64-2388

Telefaxnr.:  
(03641) 64-2469

Fernschreibnr.:  
331545

☐ Zustellanschrift: Dieses Kästchen ist anzukreuzen, wenn kein Anwalt oder gemeinsamer Vertreter bestellt ist und statt dessen im obigen Feld eine spezielle Zustellanschrift angegeben ist.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Blatt Nr. 2

Fortsetzung von Feld Nr. III WEITERE ANMELDER UND/ODER (WEITERE) ERFINDER	
<i>Wird keines der folgenden Felder benutzt, so sollte dieses Blatt dem Antrag nicht beigelegt werden.</i>	
<p><small>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</small></p> <p>HECHT, Frank Am Schönblick 19  99425 Weimar DE</p>	<p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p>
Staatsangehörigkeit (Staat): DE	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE
<p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input checked="" type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p>	
<p><small>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</small></p> <p>LANGE, Ralph Liselotte-Hermann-Str. 26 a  07747 Jena DE</p>	<p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p>
Staatsangehörigkeit (Staat): DE	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE
<p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input checked="" type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p>	
<p><small>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</small></p> <p>BLOOS, Helmut Felix-Auerbach-Str. 20  07747 Jena DE</p>	<p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p>
Staatsangehörigkeit (Staat): DE	Sitz oder Wohnsitz (Staat): DE
<p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input checked="" type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p>	
<p><small>Name und Anschrift: (Familienname, Vorname; bei juristischen Personen vollständige amtliche Bezeichnung. Bei der Anschrift sind die Postleitzahl und der Name des Staats anzugeben. Der in diesem Feld in der Anschrift angegebene Staat ist der Staat des Sitzes oder Wohnsitzes des Anmelders, sofern nachstehend kein Staat des Sitzes oder Wohnsitzes angegeben ist.)</small></p>	<p>Diese Person ist:</p> <p><input type="checkbox"/> nur Anmelder</p> <p><input type="checkbox"/> Anmelder und Erfinder</p> <p><input type="checkbox"/> nur Erfinder (Wird dieses Kästchen angekreuzt, so sind die nachstehenden Angaben nicht nötig.)</p>
Staatsangehörigkeit (Staat):	Sitz oder Wohnsitz (Staat):
<p>Diese Person ist Anmelder für folgende Staaten: <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten <input type="checkbox"/> alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme der Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> nur die Vereinigten Staaten von Amerika <input type="checkbox"/> die im Zusatzfeld angegebenen Staaten</p>	
<p><input type="checkbox"/> Weitere Anmelder und/oder (weitere) Erfinder sind auf einem zusätzlichen Fortsetzungsblatt angegeben.</p>	

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

## Feld Nr. V BESTIMMUNG STAATEN

Die folgenden Bestimmungen nach Regel 4.9 Absatz a werden hiermit vorgenommen (bitte die entsprechenden Kästchen ankreuzen; wenigstens ein Kästchen muß angekreuzt werden):

## Regionales Patent

- ☐ AP ARIPO-Patent: GH Ghana, GM Gambia, KE Kenia, LS Lesotho, MW Malawi, SD Sudan, SL Sierra Leone, SZ Swasiland, TZ Vereinigte Republik Tansania, UG Uganda, ZW Simbabwe und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Harare-Protokolls und des PCT ist
- ☐ EA Eurasisches Patent: AM Armenien, AZ Aserbaidschan, BY Belarus, KG Kirgisistan, KZ Kasachstan, MD Republik Moldau, RU Russische Föderation, TJ Tadschikistan, TM Turkmenistan und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Eurasischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☒ EP Europäisches Patent: AT Österreich, BE Belgien, CH und LI Schweiz und Liechtenstein, CY Zypern, DE Deutschland, DK Dänemark, ES Spanien, FI Finnland, FR Frankreich, GB Vereinigtes Königreich, GR Griechenland, IE Irland, IT Italien, LU Luxemburg, MC Monaco, NL Niederlande, PT Portugal, SE Schweden und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat des Europäischen Patentübereinkommens und des PCT ist
- ☐ OA OAPI-Patent: BF Burkina Faso, BJ Benin, CF Zentralafrikanische Republik, CG Kongo, CI Côte d'Ivoire, CM Kamerun, GA Gabun, GN Guinea, GW Guinea-Bissau, ML Mali, MR Mauretanien, NE Niger, SN Senegal, TD Tschad, TG Togo und jeder weitere Staat, der Vertragsstaat der OAPI und des PCT ist (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben)

## Nationales Patent (falls eine andere Schutzrechtsart oder ein sonstiges Verfahren gewünscht wird, bitte auf der gepunkteten Linie angeben):

- |   |   |
|---|---|
| <input type="checkbox"/> AE Vereinigte Arabische Emirate      | <input type="checkbox"/> LR Liberia   |
| <input type="checkbox"/> AL Albanien                          | <input type="checkbox"/> LS Lesotho   |
| <input type="checkbox"/> AM Armenien                          | <input type="checkbox"/> LT Litauen   |
| <input type="checkbox"/> AT Österreich                        | <input type="checkbox"/> LU Luxemburg                                       |
| <input type="checkbox"/> AU Australien                        | <input type="checkbox"/> LV Lettland  |
| <input type="checkbox"/> AZ Aserbaidschan                     | <input type="checkbox"/> MA Marokko   |
| <input type="checkbox"/> BA Bosnien-Herzegowina               | <input type="checkbox"/> MD Republik Moldau                                 |
| <input type="checkbox"/> BB Barbados                          | <input type="checkbox"/> MG Madagaskar                                      |
| <input type="checkbox"/> BG Bulgarien                         | <input type="checkbox"/> MK Die ehemalige jugoslawische Republik Mazedonien |
| <input type="checkbox"/> BR Brasilien                         | <input type="checkbox"/> MN Mongolei  |
| <input type="checkbox"/> BY Belarus                           | <input type="checkbox"/> MW Malawi  |
| <input type="checkbox"/> CA Kanada                            | <input type="checkbox"/> MX Mexiko  |
| <input type="checkbox"/> CH und LI Schweiz und Liechtenstein  | <input type="checkbox"/> NO Norwegen  |
| <input type="checkbox"/> CN China                             | <input type="checkbox"/> NZ Neuseeland                                      |
| <input type="checkbox"/> CR Costa Rica                        | <input type="checkbox"/> PL Polen   |
| <input type="checkbox"/> CU Kuba                              | <input type="checkbox"/> PT Portugal  |
| <input type="checkbox"/> CZ Tschechische Republik             | <input type="checkbox"/> RO Rumänien  |
| <input type="checkbox"/> DE Deutschland                       | <input type="checkbox"/> RU Russische Föderation                            |
| <input type="checkbox"/> DK Dänemark                          | <input type="checkbox"/> SD Sudan   |
| <input type="checkbox"/> DM Dominica                          | <input type="checkbox"/> SE Schweden  |
| <input type="checkbox"/> EE Estland                           | <input type="checkbox"/> SG Singapur  |
| <input type="checkbox"/> ES Spanien                           | <input type="checkbox"/> SI Slowenien                                       |
| <input type="checkbox"/> FI Finnland                          | <input type="checkbox"/> SK Slowakei  |
| <input type="checkbox"/> GB Vereinigtes Königreich            | <input type="checkbox"/> SL Sierra Leone                                    |
| <input type="checkbox"/> GD Grenada                           | <input type="checkbox"/> TJ Tadschikistan                                   |
| <input type="checkbox"/> GE Georgien                          | <input type="checkbox"/> TM Turkmenistan                                    |
| <input type="checkbox"/> GH Ghana                             | <input type="checkbox"/> TR Türkei  |
| <input type="checkbox"/> GM Gambia                            | <input type="checkbox"/> TT Trinidad und Tobago                             |
| <input type="checkbox"/> HR Kroatien                          | <input type="checkbox"/> TZ Vereinigte Republik Tansania                    |
| <input type="checkbox"/> HU Ungarn                            | <input type="checkbox"/> UA Ukraine   |
| <input type="checkbox"/> ID Indonesien                        | <input type="checkbox"/> UG Uganda  |
| <input type="checkbox"/> IL Israel                            | <input checked="" type="checkbox"/> US Vereinigte Staaten von Amerika       |
| <input type="checkbox"/> IN Indien                            | <input type="checkbox"/> UZ Usbekistan                                      |
| <input type="checkbox"/> IS Island                            | <input type="checkbox"/> VN Vietnam   |
| <input checked="" type="checkbox"/> JP Japan                  | <input type="checkbox"/> YU Jugoslawien                                     |
| <input type="checkbox"/> KE Kenia                             | <input type="checkbox"/> ZA Südafrika                                       |
| <input type="checkbox"/> KG Kirgisistan                       | <input type="checkbox"/> ZW Simbabwe  |
| <input type="checkbox"/> KP Demokratische Volksrepublik Korea |   |
| <input type="checkbox"/> KR Republik Korea                    |   |
| <input type="checkbox"/> KZ Kasachstan                        |   |
| <input type="checkbox"/> LC Saint Lucia                       |   |
| <input type="checkbox"/> LK Sri Lanka                         |   |

Kästchen für die Bestimmung von Staaten, die dem PCT nach der Veröffentlichung dieses Formblatts beigetreten sind:

Erklärung bzgl. vorsorglicher Bestimmungen: Zusätzlich zu den oben genannten Bestimmungen nimmt der Anmelder nach Regel 4.9 Absatz b auch alle anderen nach dem PCT zulässigen Bestimmungen vor mit Ausnahme der im Zusatzfeld genannten Bestimmungen, die von dieser Erklärung ausgenommen sind. Der Anmelder erklärt, daß diese zusätzlichen Bestimmungen unter dem Vorbehalt einer Bestätigung stehen und jede zusätzliche Bestimmung, die vor Ablauf von 15 Monaten ab dem Prioritätsdatum nicht bestätigt wurde, nach Ablauf dieser Frist als vom Anmelder zurückgenommen gilt. (Die Bestätigung (einschließlich der Gebühren) muß beim Anmeldeamt innerhalb der Frist von 15 Monaten eingehen.)

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

Feld Nr. VI PRIORITÄTSANSPRUCH		<input type="checkbox"/> Weitere Prioritätsansprüche sind im Zusatzfeld angegeben.		
Anmeldedatum der früheren Anmeldung (Tag/Monat/Jahr)	Aktenzeichen der früheren Anmeldung	Ist die frühere Anmeldung eine:		
		nationale Anmeldung: Staat	regionale Anmeldung:* regionales Amt	internationale Anmeldung: Anmeldeamt
Zeile (1) (08. August 2000) 08.08.2000	100 38 527.3	DE		
Zeile (2)				
Zeile (3)				

☐ Das Anmeldeamt wird ersucht, eine beglaubigte Abschrift der oben in der (den) Zeile(n) bezeichneten früheren Anmeldung(en) zu erstellen und dem internationalen Büro zu übermitteln (nur falls die frühere Anmeldung(en) bei dem Amt eingereicht worden ist(sind), das für die Zwecke dieser internationalen Anmeldung Anmeldeamt ist)

\* Falls es sich bei der früheren Anmeldung um eine ARIPO-Anmeldung handelt, so muß in dem Zusatzfeld mindestens ein Staat angegeben werden, der Mitgliedstaat der Pariser Verbandsübereinkunft zum Schutz des gewerblichen Eigentums ist und für den die frühere Anmeldung eingereicht wurde.

## Feld Nr. VII INTERNATIONALE RECHERCHENBEHÖRDE

Wahl der internationalen Recherchenbehörde (ISA)  
(falls zwei oder mehr als zwei internationale Recherchen-  
behörden für die Ausführung der internationalen Recherche  
zuständig sind, geben Sie die von Ihnen gewählte Behörde an;  
der Zweibuchstaben-Code kann benutzt werden):

ISA / EP

Antrag auf Nutzung der Ergebnisse einer früheren Recherche; Bezugnahme auf diese  
frühere Recherche (falls eine frühere Recherche bei der internationalen Recherchenbehörde  
beantragt oder von ihr durchgeführt worden ist):

Datum (Tag/Monat/Jahr)

Aktenzeichen

Staat (oder regionales Amt)

## Feld Nr. VIII KONTROLLISTE; EINREICHUNGSSPRACHE

Diese internationale Anmeldung enthält  
die folgende Anzahl von Blättern:

Antrag : 4  
Beschreibung (ohne  
Sequenzprotokollteil) : 13  
Ansprüche : 4  
Zusammenfassung : 1  
Zeichnungen : 7  
Sequenzprotokollteil  
der Beschreibung :  
Blattzahl insgesamt : 29

Dieser internationalen Anmeldung liegen die nachstehend angekreuzten Unterlagen bei:

- ☒ Blatt für die Gebührenberechnung
- ☐ Gesonderte unterzeichnete Vollmacht
- ☒ Kopie der allgemeinen Vollmacht; Aktenzeichen (falls vorhanden): 32895
- ☐ Begründung für das Fehlen einer Unterschrift
- ☒ Prioritätsbeleg(e), in Feld Nr. VI durch  
folgende Zeilennummer gekennzeichnet:
- ☐ Übersetzung der internationalen Anmeldung in die folgende Sprache:
- ☐ Gesonderte Angaben zu hinterlegten Mikroorganismen oder anderem biologischen Material
- ☐ Protokoll der Nucleotid- und/oder Aminosäuresequenzen in computerlesbarer Form
- ☒ Sonstige (einzeln aufführen): Verrechnungsscheck

Abbildung der Zeichnungen, die  
mit der Zusammenfassung  
veröffentlicht werden soll (Nr.):

Sprache, in der die  
internationale Anmeldung  
eingereicht wird:

## Feld Nr. IX UNTERSCHRIFT DES ANMELDERS ODER DES ANWALTS

Der Name jeder unterzeichnenden Person ist neben der Unterschrift zu wiederholen, und es ist anzugeben, sofern sich dies nicht eindeutig  
aus dem Antrag ergibt, in welcher Eigenschaft die Person unterzeichnet

Carl Zeiss Jena GmbH

*Willi Muhsfeldt*  
Willi Muhsfeldt

Allg. Vollmacht Nr. 32895

*Volker GERSTNER*

Volker GERSTNER  
(Erfinder)

*Ralph Lange*  
Ralph LANGE (Erfinder)

*Frank Hecht*

Frank HECHT  
(Erfinder)

*Helmut Bloos*  
Helmut BLOOS (Erfinder)

Vom Anmeldeamt auszufüllen

1. Datum des tatsächlichen Eingangs dieser internationalen Anmeldung:	(04.08.01)	04 AUG 2001	2. Zeichnungen <input checked="" type="checkbox"/> eingegangen: <input type="checkbox"/> nicht eingegangen:
3. Geändertes Eingangsdatum aufgrund nachträglich, jedoch fristgerecht eingegangener Unterlagen oder Zeichnungen zur Vervollständigung dieser internationalen Anmeldung:			
4. Datum des fristgerechten Eingangs der angeforderten Richtigstellungen nach Artikel 11(2) PCT:			
5. Internationale Recherchenbehörde (falls zwei oder mehr zuständig sind):	ISA /	6. <input type="checkbox"/> Übermittlung des Recherchenexemplars bis zur Zahlung der Recherchegebühr aufgeschoben	

Vom Internationalen Büro auszufüllen

Datum des Eingangs des Aktenexemplars  
beim Internationalen Büro:

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



## GEÄNDERTE ANSPRÜCHE

[beim Internationalen Büro am 11. März 2002 (11.03.02) eingegangen;  
neue Ansprüche 21-30 hinzugefügt; alle weiteren Ansprüche unverändert (2 Seiten)]

12.

Eine Anordnung nach einem der Ansprüche 1-10 wobei zusätzlich die "beleuchtungsseitige Tubuslinse" in axialer Richtung bewegt wird.

13.

Eine Anordnung nach Anspruch 11 – 12 , mit motorischer Bewegung.

14.

Eine Anordnung nach Anspruch 11 mit motorischer Bewegung entsprechend Abbildung 7a,7b.

15.

Eine Anordnung nach Anspruch 11 mit motorischer Bewegung eines optischen Keils entsprechend Abbildung 9.

16.

Eine Anordnung nach Anspruch 1-15 in Kombination mit der Messung der Lichtintensität mit einem lichtempfindlichen Detektor

17.

Eine Anordnung nach Anspruch 16 in Kombination mit der Messung der Lichtintensität mit einem lichtempfindlichen Detektor, wobei als lichtempfindlicher Detektor eine Photodiode verwendet wird.

18.

Eine Anordnung nach Anspruch 16,17 wobei das digitalisierte Signal des lichtempfindlichen Detektors zur Normierung der Bildhelligkeit verwendet wird.

19.

Eine Anordnung nach Anspruch 18 wobei das digitalisierte Signal des lichtempfindlichen Detektors zur Normierung der Bildhelligkeit unter Verwendung der Gleichung 17 verwendet wird.

20.

Eine Anordnung nach einem der Ansprüche 1-19 wobei die Berechnung tiefendiskriminierter Bilder durch Lösen des durch die Gleichungen 20,21,22 gegebenen Gleichungssystems erhalten wird.

21.

Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei zur Kontrolle der Belichtungszeit ein ansteuerbarer Verschuß vorgesehen ist.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

22.

Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei eine Minimierung von Artefakten durch Anwendung der Mittelung nach Gleichung 24 erfolgt.

23.

Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei die periodische Struktur in einem einschiebbaren Modul vorgesehen ist.

24.

Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei die periodische Struktur auswechselbar ist.

25.

Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei eine Codierung der periodischen Struktur mit Strichcode zur automatischen Erkennung vorgesehen ist.

26.

Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche, gekennzeichnet durch ihre Anwendung in der Mikroskopie.

27.

Anordnung nach Anspruch 27, gekennzeichnet durch ihre Anwendung in der Mikroskopie im Auflicht.

28.

Anordnung nach Anspruch 27, gekennzeichnet durch ihre Anwendung in der Mikroskopie im Auflicht- Hellfeld.

29.

Anordnung nach Anspruch 27, gekennzeichnet durch ihre Anwendung in der Mikroskopie im Durchlicht.

30.

Anordnung nach Anspruch 27, gekennzeichnet durch ihre Anwendung in der Auflicht-Fluoreszenz Mikroskopie.

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
14. Februar 2002 (14.02.2002)

PCT

(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 02/12945 A2**

(51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **G02B 21/00**

(21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/09049

(22) Internationales Anmeldedatum:

4. August 2001 (04.08.2001)

(25) Einreichungssprache: Deutsch

(26) Veröffentlichungssprache: Deutsch

(30) Angaben zur Priorität:  
100 38 527.3 8. August 2000 (08.08.2000) DE

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von  
US): **CARL ZEISS JENA GMBH** [DE/DE]; Carl-Zeiss-  
Promenade 10, 07745 Jena (DE).

**Frank** [DE/DE]; Am Schönblick 19, 99425 Weimar (DE).  
**LANGE, Ralph** [DE/DE]; Liselotte-Hermann-Strasse 26a,  
07747 Jena (DE). **BLOOS, Helmut** [DE/DE]; Felix-Auer-  
bach-Str. 20, 07747 Jena (DE).

(74) **Gemeinsamer Vertreter: CARL ZEISS JENA GMBH;**  
Carl-Zeiss-Promenade 10, 07745 Jena (DE).

(81) Bestimmungsstaaten (national): JP, US.

(84) Bestimmungsstaaten (regional): europäisches Patent (AT,  
BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC,  
NL, PT, SE, TR).

**Veröffentlicht:**

— ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu  
veröffentlichen nach Erhalt des Berichts

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen  
Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on  
Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe  
der PCT-Gazette verwiesen.

(72) Erfinder; und

(75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **GERSTNER, Volker**  
[DE/DE]; Sophienstrasse 30, 07743 Jena (DE). **HECHT,**

(54) **Title:** ASSEMBLY FOR INCREASING THE DEPTH DISCRIMINATION OF AN OPTICAL IMAGING SYSTEM

(54) **Bezeichnung:** ANORDNUNG ZUR ERHÖHUNG DER TIEFENDISKRIMINIERUNG OPTISCH ABBILDENDER SYS-  
TEME

(57) **Abstract:** The invention relates to a method for increasing the depth of contrast during microscopic imaging. The method and implementation described can be designated as structured illumination, which creates quasi-confocal optical sections (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10). During the implementation of the method, a grid structure, located in the illumination field stop plane of a microscope, the object plane and the TV intermediate-image plane of a microscope are arranged "confocally" (4, 5, 6, 7, 9). The term "confocally" refers to the fact that the grid, object and the intermediate image plane are positioned on optically conjugated planes. This assembly enables the grid structure to be projected into the object plane of the microscope and the object, thus structured, to be reproduced on the TV intermediate-image plane using the following optical system. Optical sections are created by the calculation of the modulation depth of the structured object. The object is reproduced perpendicular to the direction of observation on several focus planes, to achieve a 3-dimensional registration of said object and is detected using an array-detector (e.g. CCD camera). The method and implementation of structured illumination described in this patent can primarily be used in the field of reflection and fluorescent microscopy. In principle, said method can be used for all linear interactions between light and matter. The use of the method is likewise not restricted to the field of microscopy.

(57) **Zusammenfassung:** Die Erfindung betrifft eine Methode zur Erhöhung des Tiefenkontrasts bei der mikroskopischen Abbildung. Die dargestellte Methode und Realisierung kann als strukturierte Beleuchtung zur Erzeugung quasi-konfokaler optischer Schnitte bezeichnet werden (1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10). Bei der Realisierung der Methode werden eine Gitterstruktur, die sich in der Leuchtfeldblende eines Mikroskops befindet, die Objektebene und die TV-Zwischenbildebene eines Mikroskops "konfokal" angeordnet (4, 5, 6, 7, 9). Der Begriff "konfokal" trägt der Tatsache Rechnung, dass sich Gitter, Objekt und die Zwischenbildebene in optisch konjugierten Ebenen befinden. Durch diese Anordnung wird die Gitterstruktur in die Objektebene des Mikroskops projiziert und das derart strukturierte Objekt über die nachfolgende Optik in die TV-Zwischenbildebene des Mikroskops abgebildet. Durch Berechnung der Modulationstiefe des strukturierten Objekts werden optische Schnitte generiert. Eine 3-dimensionale Erfassung des Objekts wird dadurch realisiert, dass das Objekt in mehreren Schärfeebenen senkrecht zur Beobachtungsrichtung abgebildet und mittels Array-Detektor (z.B. CCD-Kamera) detektiert wird. Vorrangig kann die hier dargestellte Methode und Realisierung der strukturierten Beleuchtung in der Reflexions- und Fluoreszenzmikroskopie eingesetzt werden. Prinzipiell ist die Anwendung der Methode bei allen linearen Wechselwirkungen von Licht mit Materie möglich. Ebenso ist die Methode nicht auf die Anwendung in der Mikroskopie beschränkt.

WO 02/12945 A2

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

***Stand der Technik***  
***Patente***

- [1] Gröbler et al  
US Patent 5,493,400, "Arrangement for projecting a test pattern onto a surface to be investigated"  
Prioritätsdatum 7. Juni 1993
- [2] G. Schöppe et al.  
DE Anmeldung "Optisches Projektionsgitter"  
Prioritätsdatum 26. Oct. 1993
- [3] G. Schöppe  
Verfahren und Vorrichtung zur Tiefenselektion von Mikroskopbildern  
DE Aktenzeichen 199 30 816.0, 9. Juli 1999
- [4] Ben Levy et al  
US-Patent 5,867,604, "Imaging Measurement System", Continuation in Part of 08/510,632, Prioritätsdatum 3.Aug. 1995, US
- [5] Ben Levy et al.  
PCT Anmeldung WO 97/06509, "Imaging Measurement System" Prioritätsdatum 3.Aug. 95

***Veröffentlichungen***

- [6] T. Wilson et al.  
Method of obtaining optical sectioning by using structured light in a conventional microscope, Optics Letters 22 (24) 1997.
- [7] T. Wilson et al., Real-time three dimensional imaging of macroscopic structures, Journal of Microscopy 191 (2) 1998
- [8] M.A.A. Neil et al Real Time 3D fluorescence microscopy by two beam interference illumination, Optics Communications 153, 1998
- [9] F. Lanni et al., Grating image Systems for Optical Sectioning Fluorescence Microscopy of Cells, Tissues, and Small Organisms. Published in „Imaging Neurons-a laboratory manual, edited by R.Yuste,F.Lanni,A.Konnerth, Cold Spring Harbor Laboratory Press (2000).
- [10] Optical Sectioning Fluorescence Spectroscopy in a Programmable Array Microscope  
Q.S. Hanley, P. J. Verveer, T. M. Jovin  
Applied Spectroscopy 52 (6) 783 (1998).

## Beschreibung der Abbildungen

In Abbildung 1 ist das vereinfachte optische Schema der strukturierten Beleuchtung dargestellt. Eingezeichnet ist der bildgebende Strahlengang (Lukenstrahlengang). Ein 1 dimensionales Transmissionsgitter (3), welches sich in einer Schärfeebene der dargestellten optischen Anordnung befindet, wird durch eine Lichtquelle (1) und nachfolgender Kollektoroptik (2) beleuchtet. Das Transmissionsgitter kann in axialer Richtung (parallel zur optischen Achse des Systems) bewegt werden. Die Bewegungsmöglichkeit ist durch den eingezeichneten Pfeil dargestellt. Dem Gitter folgt in Lichtrichtung eine planparallele Glasplatte (4). Der Winkel der planparallelen Platte zur optischen Achse kann definiert eingestellt werden. Durch die nachfolgende beleuchtungsseitigen „Linsen“<sup>1</sup> (5 + 6) (Tubuslinse und Objektiv bzw. Kondensor) wird die Struktur in die Präparatebene (7) abgebildet. Die durch einen Pfeil dargestellte Bewegungsmöglichkeit der Linse (5) (Tubuslinse) kann als alternative Lösung zur Bewegung des Gitters (3) verwendet werden, da eine axiale Verschiebung der Tubuslinse im Wesentlichen einer axialen Verschiebung der Schärfeebene gleichkommt.

Von dem Präparat ausgehendes Licht wird wiederum über ein Linsenpaar (8 + 9) (Objektiv und Tubuslinse) in die darauffolgende Schärfeebene (10) abgebildet.

In Abbildung 2 ist der im allgemeinen auftretende Farblängsfehler der optischen Anordnung aus Abbildung 1 schematisch dargestellt. Eingezeichnet sind die Lukenstrahlengänge für zwei unterschiedliche Wellenlängen. Durch die chromatische Längsabberation der Linsenkombination liegen die Schärfeebenen für unterschiedliche Wellenlängen axial an unterschiedlichen Orten. Durch eine axiale Verschiebung des Gitters (bzw. der Tubuslinse (5) kann dieser chromatische Längsfehler korrigiert werden. Dies ist durch die Gitterpositionen (3a) und (3b) angedeutet. Außerdem wird für die beiden Wellenlängen axial nicht der gleiche Ort in der Probe scharf abgebildet. Dies ist durch die Schärfeebenen (7a) und (7b) dargestellt. Der Unterschied in der Lage der Schärfeebenen (7a) bzw. (7b) führt z.B. bei Mehrfachfluoreszenz zu einer fehlerhaften Erfassung des Objekts. Die chromatische Verschiebung der Schärfeebenen im Objekt kann über eine Software-Korrektur der axialen Positionen berücksichtigt werden.

In Abbildung 3 ist eine Ausführung der optischen Anordnung aus Abbildung 1 bzw. Abbildung 2 zur Auflicht-Fluoreszenzdetektion in der Mikroskopie dargestellt. Mittels einer Lampe (1) und nachfolgender Linse (2) wird eine Struktur 3 (Sinusgitter oder binäres Transmissionsgitter) beleuchtet. Die Position der Struktur kann z.B. über eine motorisch getriebene Excenter-Bewegung axial variiert werden (siehe Abbildung 7). Zur Ansteuerung ist der Motor des Excenters über ein Kabel mit der Steuerungselektronik verbunden. Eine darauffolgende planparallele, transparente Glasplatte (4) (Material z.B. BK7 oder Quarzglas) kann z.B. mittels Scanner (Abbildung 7) in verschiedene Winkelpositionen relativ zur optischen Achse versetzt werden. Zur Ansteuerung ist der Scanner über ein Kabel mit der Elektronikbox verbunden. Durch den Parallelversatz der Platte kann die Ortsphase der Struktur variiert werden (Abbildung 5). Die nachfolgende (beleuchtungsseitige) Tubuslinse (5) bildet die Struktur in den Unendlichraum der ICS-Optik des Mikroskops ab. Durch den Anregungsfilter (7), den dichroitischen Strahlteiler (11) und das Objektiv (10) wird die Struktur in die Präparatebene abgebildet. Das Präparat (9) befindet sich auf dem höhenverstellbaren Objektstisch (8). Die Höhe des Tisches (8) kann mit dem Trieb (6) in Pfeilrichtung eingestellt werden. Dazu ist der Trieb über ein Kabel mit der

<sup>1</sup> Unter Linsen sollen hier im allgemeinen auch komplexe Linsenssysteme verstanden werden.



Elektroniksteuerung (15) verbunden. Das von der Probe emittierte Fluoreszenzlicht wird über den dichroitischen Farbteiler und den nachfolgenden Emissionsfilter (12) von dem Anregungslicht separiert. Anregungsfilter, dichroitischer Strahlteiler und Emissionsfilter sind in der Gruppe (18) zusammengefaßt dargestellt. Die strukturierte Fluoreszenzemission wird schließlich über eine Tubuslinse (13) auf die Kamerazwischenbildebene fokussiert. Der CCD-Chip der Kamera (14) detektiert die derart strukturierte Fluoreszenzemission. Die Kameradaten werden zum PC (16) übertragen. Durch den PC können über die elektronische Schnittstelle zur Steuerelektronik die axiale Position der Struktur (Gitter) und der Winkel der planparallelen Platte relativ zur optischen Achse eingestellt werden. Dazu wird die Steuerungselektronik mit einem z.B. galvanischen Scanner (z.B. M2T, Fa. General Scanning 500 Arsenal Street, Watertown, MA 02472) verbunden. Letzlich kann damit die Ortsphase des Gitters gestellt werden (Abbildung 6). Desweiteren ist die axiale Position des Gitters einstellbar. Damit können chromatische Längsfehler minimiert werden (Abbildung 2). Dadurch wird die Orts-Phasenabhängige Detektion und Verrechnung der strukturierten Bilder zur Berechnung eines optischen Schnittbildes bei unterschiedlichen chromatischen Bedingungen möglich. Das Ergebnis der Berechnung wird auf dem Monitor 17 dargestellt. Zur Messung der Beleuchtungsintensität wird über z.B. eine planparallele Platte (20) ein geringer Anteil des Anregungslichts ausgekoppelt und über eine Linse auf eine Photodiode (19) fokussiert. Die Spannung der Photodiode wird über eine Kabelverbindung zur Steuerelektronik geführt. Nach einer Analog-Digital-Wandlung wird der digitale Wert für die Korrektur von Instabilitäten der Lichtquelle verwendet. Mögliche Realisierungen der axialen Verschiebung des Gitters und der Einstellung des Winkels der planparallelen Platte sind Abbildung 7 zu entnehmen.

In Abbildung 4 ist eine entsprechende Anordnung für den Fall einer reflektierenden Probe dargestellt. Dazu wird die umrahmte Baugruppe (18) aus Abbildung 3 durch einen 50:50 Strahlteiler (21) (z.B. semitransparenter Spiegel) ersetzt.

In Abbildung 5 ist ein erweitertes System mit einem elektronischen Verschuß („Shutter“) zur Kontrolle der Belichtungszyklen für die Kameradetektion dargestellt. Der hier dargestellte Shutter besteht aus einem Planspiegel (22), dessen Winkel zur optischen Achse mittels z.B. galvanischem Scanner eingestellt werden kann, einem nachfolgenden Prisma (21) und einem feststehenden Spiegel (23). Durch die dargestellte Kombination von Planspiegel mit einstellbarem Winkel zur optischen Achse, Prisma und fixiertem Planspiegel kann eine „offene“ (Strahlengang mit durchgezogenen Linien) und eine „geschlossene“ Stellung der optischen Anordnung (Strahlengang gestrichelt) realisiert werden. Die Anordnung ermöglicht ein schnelles „Ein- und Ausschalten“ der Lichtquelle. Realistische Schaltzeiten liegen im Bereich von etwa 1-10ms. Die minimalen Verschußzeiten werden durch die Reaktionszeiten des Scanners bei typischen Spiegeldurchmessern von etwa 20 mm limitiert.

Wesentlicher Vorteil ist hier die hohe Schaltzeit der Anordnung und der im Vergleich zu normalen Verschlüssen vernachlässigbare Verschleiß der dargestellten Anordnung.

In Abbildung 6 ist das Schema zur Einstellung der Ortsphase des Gitters dargestellt. Das hier dargestellte Rechteckgitter 1 wird über eine planparallele Glasplatte 2 abgebildet. Abhängig vom Winkel der Platte kann das Bild des Gitters 3 verschoben werden. Dadurch ist eine Einstellung der Phase des Gitters ohne mechanische Bewegung desselben möglich.

In Abbildung 7 a) ist eine seitliche Ansicht der Mimik zur Einstellung der axialen Position der Gitter und der Einstellung des Winkels der planparallelen Platte dargestellt. Über einen motorisch (4) angesteuerten Excenter (3) kann die axiale Lage (Höhe) der Struktur (2) eingestellt werden. Ein galvanischer Scanner (5) erlaubt über eine Drehbewegung die

Einstellung des Winkels der planparallelen Platte (1). In Abbildung 4 b) ist dieselbe Anordnung in Aufsicht dargestellt.

In Abbildung 8 ist schließlich eine Ausführung des gesamten Moduls dargestellt, bei der zwei Blendenöffnungen vorgesehen sind. Die als Position 1 bezeichnete Öffnung ist ein strukturfreier optischer Durchgang mit einer variablen Irisblende (Feldblende des Mikroskops), Position 2 enthält die oben ausführlich dargestellte optische Anordnung bestehend aus Struktur und planparalleler Platte im optischen Strahlengang. Durch die hier dargestellte Anordnung ist ein einfacher Wechsel von z.B. gewöhnlicher Auflicht-Mikroskopie zur strukturierten Beleuchtung möglich. Dazu muß das gesamte dargestellte Modul senkrecht zur optischen Achse in die jeweils gewünschte Position bewegt werden. In Abbildung 9 ist eine Möglichkeit zur Korrektur der chromatischen Längsabberation in der LFB-Ebene dargestellt. Dazu werden zwei optische Glaskeile (1)(2) eingesetzt, wobei einer der beiden Keile z.B. durch einen Linearmotor in der durch den Pfeil angegebenen Richtung verschoben werden kann. Die dargestellte Anordnung erlaubt die Variation der optischen Weglänge.

In Abbildung 10 ist die Änderung der optischen Weglänge zur Korrektur der chromatischen Längsfehler mittels optischer Keile (Abbildung 9) in eine Ausführung des optischen Systems integriert dargestellt. Die Darstellung entspricht bis auf die Keilanordnung (21) der Abbildung 3.

In Abbildung 11 ist eine Ansicht des Mikroskopsystems und den elektronischen Komponenten schematisch dargestellt.

In Abbildung 12 ist der Träger des Gitters aus Abbildung 7 (2) in codierter Ausführung dargestellt. Die dargestellten 5 elektronischen Kontakte werden durch die ebenfalls dargestellten leitenden Stifte zur Realisierung der gewünschten binären Information zur automatischen Erkennung von den implementierten Gitterträgern verwendet. Insbesondere bei mechanisch wechselbaren Gittern ist die Codierung der Gitter sinnvoll, um durch die automatische Erkennung Fehler des Anwenders durch z.B. falsch eingestellte Orts-Phasen zur Berechnung von Schnittbildern zu vermeiden.

In Abbildung 13 ist eine Realisierung zur automatischen Erkennung eines mechanischen Moduls dargestellt. Bei der durch den Pfeil angedeuteten relativen Bewegung der beiden Grenzflächen kann ein photoempfindlicher Empfänger abgedeckt bzw. geöffnet werden. Dadurch ist eine automatische Positionserkennung realisierbar.

## 1.2 Beschreibung der Methode

Im folgenden wird das Prinzip der strukturierten Beleuchtung dargestellt. In der Ebene der Leuchtfeldblende (LFB) eines Mikroskops befindet sich eine Struktur. Bei der Struktur soll es sich im folgenden um eine 1 oder 2-dim periodische Struktur handeln. Die 1-oder 2-dimensionalen periodischen Struktur (Gitter) kann z.B. ein lithographisch gefertigtes Transmissions oder Reflexionsgitter sein. Das Gitter kann sowohl eine binäre (Rechteckgitter) oder auch sinusförmige Gestalt (Sinusgitter) besitzen. Das Gitter wird über geeignete optische Elemente (beleuchtungsseitige Tubuslinse, und z.B. Objektiv) in die Objektebene abgebildet. In der Objektebene befindet sich z.B. ein reflektierendes oder fluoreszierendes Objekt. Die laterale Struktur der Beleuchtungsintensität führt bei einer linearen Wechselwirkung zu einem strukturierten Objekt. Das strukturierte Objekt wird wiederum über das Objektiv und die TV-seitige Tubuslinse in die nachfolgende Zwischenbildebene abgebildet und mittels Array Detektor registriert (siehe Abbildung). Die Sensorfläche des Detektors befindet sich dazu in der Zwischenbildebene (TV-Ausgang am Mikroskop).

Die Erhöhung des Tiefenkontrasts bei einer mikroskopischen Aufnahme mit der strukturierten Beleuchtung ist letztlich darauf zurückzuführen, daß nur der Mittelwert (oder DC-Anteil) bei einer konventionellen mikroskopischen Abbildung bei einer Defokussierung nicht verschwindet. Wird hingegen ein Objekt mit einer Struktur beleuchtet, deren Ortsfrequenz(en) ungleich null ist, und wertet man anschließend nur den Anteil der Bildinformation aus, der strukturiert abgebildet wurde, so kann der DC-Anteil (Nullfrequenz) numerisch entfernt werden. Dadurch wird der Tiefenkontrast erhöht. Die Struktur der Beleuchtung "markiert" den Teil des Objekts der sich im Fokus des optischen Systems befindet.

Zur Berechnung optischer Schnitte muß im Wesentlichen die Modulationstiefe (= AC-Anteil) des strukturierten Objekts pixelweise bestimmt werden. Im einfachsten Fall einer 1-dimensional periodischen, sinusförmigen Struktur, ist bei einer linearen Wechselwirkung die bildseitige Intensität  $I = I(x, y, \varphi)$  mit den Orts-Variablen  $x, y$  und dem Parameter für den Orts-Phasenwinkel der periodischen Struktur  $\varphi$  gegeben durch

$$I(x, y, \varphi) = a_{0,x,y} + m_{x,y} \cdot \sin(k_x \cdot x + \varphi) \quad \text{Gleichung 1}$$

mit der lokal abhängigen Modulationstiefe  $m_{x,y} = m(x, y)$ .

Die Modulationstiefe ist dabei einerseits abhängig von der Gitterfrequenz, der abbildenden Optik und von dem betrachteten Objekt.

Unter Verwendung der Additionstheoreme läßt sich dies schreiben als

$$I_{x,y}(\varphi) = a_{0,x,y} + a_{1,x,y} \cdot \sin(\varphi) + b_{1,x,y} \cdot \cos(\varphi) \quad \text{Gleichung 2}$$

Dabei ist  $\varphi$  der Phasenwinkel der sinusförmigen strukturierten Beleuchtung,  $a_{0,x,y}$  der DC-Anteil (=Mittelwert) und

$$a_{1,x,y} = m_{x,y} \cos(k_x x) \quad \text{Gleichung 3}$$

$$b_{1,x,y} = m_{x,y} \sin(k_x x) \quad \text{Gleichung 4}$$

damit folgt sofort für die lokale Modulationstiefe der Sinusfrequenz

$$m_{x,y} = \frac{\sqrt{a_{1x,y}^2 + b_{1x,y}^2}}{a_{0x,y}} \propto \sqrt{a_{1x,y}^2 + b_{1x,y}^2} \quad \text{Gleichung 5a}$$

Ein optisches Schnittbild ist gerade die mit der Bild-Intensität (=DC-Anteil) multiplizierte Modulationstiefe

$$I_{\text{sectioned } xy} = m_{x,y}' = m_{x,y} \bar{I} = \sqrt{a_{1x,y}^2 + b_{1x,y}^2} \quad \text{Gleichung 5b}$$

Zusätzlich kann der Phasenwinkel berechnet werden

$$\tan(\varphi) = -\frac{a_{1x,y}}{b_{1x,y}} \quad \text{Gleichung 6}$$

Die zunächst von der Modulationsfrequenz abhängigen Koeffizienten  $a_{1x,y}$  und  $b_{1x,y}$  und der lokal abhängige Mittelwert können andererseits durch Änderung der Phase mit der diskreten Fourierentwicklung wie folgt geschrieben werden

$$a_{0x,y} = \bar{I} = \frac{1}{N} \sum_{n=0}^{N-1} I_{x,y} \left( n \frac{2\pi}{N} \right) \quad \text{Gleichung 7}$$

$$a_{1x,y} = \frac{2}{N} \sum_{n=0}^{N-1} \sin \left( n \frac{2\pi}{N} \right) I_{x,y} \left( n \frac{2\pi}{N} \right) \quad \text{Gleichung 8}$$

$$b_{1x,y} = \frac{2}{N} \sum_{n=0}^{N-1} \cos \left( n \frac{2\pi}{N} \right) I_{x,y} \left( n \frac{2\pi}{N} \right) \quad \text{Gleichung 9}$$

Dabei ist N die Anzahl der Phasenschritte.

Durch einsetzen der Gleichungen 7-9 in die Gleichung 5 kann die lokale Modulationstiefe  $m_{x,y}$  berechnet werden.

Für drei bzw. vier Phasenschritte vereinfachen sich die Formeln für die letztlich gesuchten optischen Schnitte zu.

$$I_{\text{sectioned } xy} = m_{x,y}' = \frac{\sqrt{2}}{3} \sqrt{\left[ I_{x,y}(0) - I_{x,y} \left( \frac{2\pi}{3} \right) \right]^2 + \left[ I_{x,y}(0) - I_{x,y} \left( \frac{4\pi}{3} \right) \right]^2 + \left[ I_{x,y} \left( \frac{2\pi}{3} \right) - I_{x,y} \left( \frac{4\pi}{3} \right) \right]^2} \quad \text{Gleichung 10}$$

für drei Phasenschritte  $(0, 2\pi/3, 4\pi/3)$  bzw.

$$I_{\text{sectioned } xy} = m_{x,y}' = \frac{1}{2} \sqrt{\left[ I_{x,y}(0) - I_{x,y}(\pi) \right]^2 + \left[ I_{x,y} \left( \frac{\pi}{2} \right) - I_{x,y} \left( \frac{3\pi}{2} \right) \right]^2} \quad \text{Gleichung 11}$$

für vier Phasenschritte  $(0, \pi/2, \pi, 3\pi/2)$

Zur Berechnung des DC-Anteils ist der „Mittelwert“ über die Phasenbilder zu berechnen (Gleichung 7). Für drei Phasenwinkel ergibt sich

$$\bar{I}_{x,y} = a_{0x,y} = \frac{1}{3} \left( I_{x,y}(0) + I_{x,y}\left(\frac{2\pi}{3}\right) + I_{x,y}\left(\frac{4\pi}{3}\right) \right) \quad \text{Gleichung 12a}$$

und entsprechend für vier Phasenwinkel

$$\bar{I}_{x,y} = a_{0x,y} = \frac{1}{4} \left( I_{x,y}(0) + I_{x,y}\left(\frac{\pi}{2}\right) + I_{x,y}(\pi) + I_{x,y}\left(\frac{3\pi}{2}\right) \right) \quad \text{Gleichung 12b}$$

Der einfachste Fall ist die Berechnung des Mittelwerts mit 2 Phasenschritten.

$$\bar{I}_{x,y} = a_{0x,y} = \frac{1}{2} (I_{x,y}(0) + I_{x,y}(\pi)) \quad \text{Gleichung 12c}$$

Aufgrund des Verschiebungssatzes für die trigonometrischen Funktionen werden bei der Berechnung mithilfe der letzten Gleichungen 12c die Modulationsfrequenzen eliminiert. Besonders vorteilhaft ist dieser einfache Algorithmus dadurch, daß auch bei Verwendung eines Rechteckgitters (s.u.) alle höheren Harmonischen des Rechteckgitters unterdrückt werden. Für  $N = 2^n$ ,  $n$  eine natürliche Zahl ist dies immer der Fall. Im allg. bei Verwendung von mehr als 2 Phasenschritten ist dies nicht der Fall. Z.B. führt bei drei Phasenschritten (Gleichung 12a) die dritte Harmonische bei der Mittelwertbildung zu streifenförmigen Artefakten.

Der allgemein mit Gleichung 7 bzw. Gleichung 12 berechnete DC-Anteil entspricht der konventionellen Aufnahme im Mikroskop. Der Tiefenkontrast ist dann nicht erhöht. Vorteilhaft ist die Berechnung der „Hellfeldinformation“ mit Gleichung 7 (12) insbesondere applikativ, da durch dieses Processing ein „Umschalten“ von optischem Schnitt zu konventioneller Aufnahme ermöglicht wird, ohne daß ein mechanisches Entfernen der Struktur aus dem Strahlengang nötig ist.

Wird sowohl der DC-Anteil als auch ein optischer Schnitt (AC-Anteil) berechnet, so kann (nach geeigneter Kalibrierung) auch die „Out-of-Focus“ Information durch Differenzbildung (DC - AC) bestimmt werden.

Bei Verwendung eines Rechteckgitters kann zur Darstellung die folgende Reihenentwicklung zur Beschreibung verwendet werden.

$$I(x, y, \varphi) = a_{0x,y} + \sum_{i=0}^{\infty} \frac{m_{k_x(2i+1)x,y} \sin \left( k_x(2i+1) \left( x + \frac{\varphi}{k_x} \right) \right)}{(2i+1)} \quad \text{Gleichung 13}$$

Die Modulationstiefe der Gitterfrequenz bei Fokussierung z.B. auf einen Spiegel als Probe kann durch die Modulationstransferfunktion beschrieben werden [T. Wilson].

$$m_k = \frac{2}{\pi} \left[ a \cos \left( \frac{k \lambda}{2 NA} \right) - \frac{k \lambda}{2 NA} \sqrt{1 - \left( \frac{k \lambda}{2 NA} \right)^2} \right]^2 \quad \text{Gleichung 14}$$

bei inkohärenter Beleuchtung und Aufricht-Beleuchtung. Dabei ist  
 $NA = \text{numerische Apertur}$

$\lambda = \text{Wellenlänge}$

$k = \text{Ortsfrequenz}$

Obige Formel gilt für kreisförmige Pupillen. Bei Defokussierung ist eine Wellenabberation als komplexer Phasenfaktor mit der Pupillenfunktion zu multiplizieren.

Anhand der Gleichung 10 erkennt man, daß die 3-Phasenformel implizit die 3. Harmonische der Fourierentwicklung eines Rechteckgitters (Gleichung 13,  $i=1$ ) unterdrückt. Erst die 5. Harmonische ( $i=2$ ) führt zu einem Störterm und damit zu einer Restmodulation (Artefakt). Wird das 1-dim Gitter so dimensioniert, daß die 5. Harmonische durch den „optischen Tiefpaß“ nicht übertragen werden kann, d.h. größer gewählt wird als die optische Grenzfrequenz

$$k_{limit} = \frac{2NA}{\lambda}$$

Gleichung 15

können die Artefakte durch höhere Harmonische vollständig unterdrückt werden. Bei Anwendung der Gleichung 11, d.h. bei Verwendung von vier Phasenschritten zur Berechnung der (lokalen) Modulationstiefe ist dies nicht der Fall. Gleichung 11 kann damit im Zusammenhang mit Rechteckgittern nur eingeschränkt verwendet werden, z.B. für den Fall, daß bereits die 3. Harmonische in der Fourierentwicklung durch die Optik nicht übertragen wird. Vorteilhaft ist bei Gleichung 11 unter dieser zusätzlichen Voraussetzung, daß die 2. Harmonische des Gitters implizit durch den Algorithmus unterdrückt werden kann.

### 1.3 Technische Ausführungen

Technische Ausführungen sind in den Abbildungen 3 und 4 und weitere Details zu den Ausführungen in den Abbildungen 5-8 dargestellt.

Die folgenden Details der Ausführungen, die in den abbildenden Systemen für die Anwendung in der Fluoreszenz-Mikroskopie (Abbildung 3) und der Reflexionsmikroskopie (Abbildung 4) angewendet werden sollen an dieser Stelle nochmals herausgestellt werden.

Es handelt sich dabei um die folgenden relevanten Ausführungen.

- Die Phasenstellung durch eine planparallele Platte (Planplattenmikrometer)
- Die (motorische) Bewegung des Gitters in axialer Richtung zur Korrektur chromatischer Längsfehler (Fokuskorrektur)
- Die Korrektur von Instabilitäten der Lichtquelle durch Messung der Lichtintensität mittels Photodetektor (typischerweise einer Photodiode) und anschließender numerischer Korrektur durch Skalierung der erfaßten Einzel-Phasenbilder
- Die Korrektur von z.B. Bleichen der Farbstoffe in der Fluoreszenz-Mikroskopie durch ein optimiertes Mittelungsverfahren.
- Die Realisierung eines schnellen Shutters mittels Scanner entsprechend Abbildung 5
- Die Korrektur z.B. statistischer Änderungen der Ortsphase des Gitters durch lösen eines Gleichungssystems.
- Die Realisierung eines Systems zur Verwendung eines 2-dimensionalen Gitters unter Verwendung von zwei orthogonalen Planplattenmikrometern.

#### 1.1.11.3.1 Phasenverschiebung durch eine planparallele Platte

Die Einstellung der Phasenlage des Gitters kann vorteilhaft durch eine Parallelverschiebung realisiert werden (Planplattenmikrometer). Das Prinzip ist in Abbildung 6 dargestellt. Eine planparallele Glasplatte (Material z.B. BK7) wird nach dem Gitter angeordnet und z.B. durch einen galvanischen Scanner wohldefinierte Winkel eingestellt. Die Verwendung eines Scanners bietet insbesondere den Vorteil einer präzisen und schnellen Einstellung des

Winkels. Technisch möglich sind hier typische Stellwinkel etwa im Bereich  $\pm 15^\circ$  mit einer Stellgenauigkeit von  $< 50 \mu\text{rad}$ . bei einer Einstellzeit  $< 5\text{ms}$ .

Die Datenaufnahme synchron zum Detektor kann auf zwei Arten realisiert werden:

- durch eine kontinuierliche Bewegung der planparallelen Platte und Synchronisation mit der Kamera
- durch schrittweises, sequentielles anfahren der Scanposition

Die sequentielle Positionierung bietet den Vorteil einer höheren Modulationstiefe (=Kontrast) des strukturierten Objekts bzw. einer Unabhängigkeit des Kontrasts von dem Verhältnis Belichtungszeit/Auslesezeit der Kamera.

Um einerseits die anregungsseitige Transmission zu optimieren und andererseits Vielfachreflexionen an der planparallelen Platte zu minimieren, ist es vorteilhaft die Reflexionen an allen optischen Komponenten, insbesondere der Struktur (bzw. dem Substrat) und der planparallelen Platte durch Antireflexbeschichtungen zu minimieren. Außerdem ist es vorteilhaft, die planparallele Platte unter einem kleinen Winkel (ungleich  $0^\circ$ ) in den optischen Strahlengang einzufügen. Damit können störenden Reflexionen ausgeblendet werden.

#### **1.1.21.3.2 Fokuskorrektur, Ausgleich von chromatischer Längsabberation**

Wenngleich die Abbildung von z.B. fluoreszierenden und reflektierenden Objekten in einigen Punkten identisch ist, so ergeben sich durch die bei z.B. fluoreszierenden Objekten vorhandenen Unterschiede von Anregungs- zu Emissionswellenlänge (Stokesshift) einige wesentliche zu beachtenden Punkte.

Da in der Regel auch chromatisch korrigierte Objektive einen chromatischen Längsfehler aufweisen, befinden sich Gitter, Objekt und TV-Zwischenbildebene jeweils nur für eine Anregungs/Emissionswellenlänge in den optisch konjugierten Ebenen. Bei einer Änderung der spektralen Verhältnisse (Filterwechsel) oder bei einem Austausch der Objektive ist die einmal eingestellte Scharfstellung von Objekt, Gitter und Kamera nicht mehr gegeben. Dies führt einerseits zu einer Verringerung des Kontrasts im strukturierten Bild, andererseits bei größeren Farblängsfehlern zu streifenförmigen Artefakten im errechneten optischen Schnittbild.

Die Scharfstellung des Objekts auf die Kamera ZB Ebene kann durch nachfokussieren realisiert werden. Zusätzlich ist aber die Korrektur der Gitterposition relativ zur Objektebene notwendig. In diesem Patentantrag wird die vorteilhafte Verwendung einer manuellen oder motorischen Verstellmöglichkeit zur Scharfstellung des Gitters auf das Objekt dargestellt. Dies kann bei der Verwendung einer ICS Optik auf zwei verschiedene Arten umgesetzt werden:

- a) Verschiebung der „Tubuslinse“ in Abbildung 1
- b) Verschiebung der Gitterposition in Abbildung 2

Auch bei substantiell identischen Wellenlängen für Anregung und Detektion (Reflexionsmikroskopie) kann durch chromatische Abberationen eine axiale Bewegung der Struktur bzw. der beleuchtungsseitigen Tubuslinse zur Korrektur notwendig werden. Insbesondere ist dies bei einem Wechsel von z.B. sichtbarem Spektralbereich zu UV der Fall.

Die Anpassung der Gitterposition kann z.B. durch eine exzentrische Bewegung realisiert werden. (Abbildung 7a,7b). Bei ausreichenden Platzverhältnissen (bzw. ausreichend geringer notwendiger Fokuskorrektur) ist auch die Verwendung eines optischen Keils und damit der Veränderung der optischen Weglänge möglich (Abbildung 9,10).

### 1.1.31.3.3 Korrektur der zeitlichen Intensitäts-Instabilität der Lichtquelle

Eine zeitliche Änderung der Intensität der Lichtquelle während der Detektion der im allgemeinen  $N \geq 3$  „Phasenbilder“ führt zu streifenförmigen Artefakten im berechneten optischen Schnittbild, da in der Ableitung obiger Formeln eine zeitlich konstante Lichtquelle vorausgesetzt wird. Um diesen im Bezug auf die Bildqualität störenden Einfluß zeitabhängiger Änderungen der Beleuchtung zu eliminieren bzw. zu minimieren, kann wie folgt vorgegangen werden. In einem ersten Schritt wird die Intensität der Lichtquelle z.B. durch Abbildung auf einen lichtempfindlichen Empfänger –z.B. eine handelsübliche Photodiode –ein Meßwert für die Beleuchtungs-Intensität gewonnen (in den Abbildung 3,4,5 dargestellt). Das Zeitintervall für die Integration ist dabei auf das Zeitintervall für die Belichtung des CCD-Chips der Kamera abzustimmen. Das Spannungssignal der Photodioden-Schaltung wird anschließend über einen AD-Wandler digitalisiert. Nach Messung der N Einzelbilder mit den Ortsphasen

$$\varphi_n = \frac{2\pi n}{N} \quad \text{Gleichung 16}$$

können diese z.B. wie folgt normiert werden.

$$I_{norm\,x,y}(\varphi_n) = \frac{I_{x,y}(\varphi_n)}{C(\varphi_n)} \quad \text{Gleichung 17}$$

mit dem über die Phasenbilder gemittelten digitalisierten Photodiodensignal

$$PD_{Signal} := \frac{\sum_{n=0}^{N-1} PD_{Signal}(\varphi_n)}{N} \quad \text{Gleichung 18}$$

und dem Korrekturfaktor

$$C(\varphi_n) := \frac{PD_{Signal}(\varphi_n)}{PD_{Signal}} \quad \text{Gleichung 19}$$

### 1.1.41.3.4 Phaseninstabilität, Phasenstellgeschwindigkeit

Um die Phaseninstabilität zu minimieren, ist es vorteilhaft einen temperaturstabilisierten galvanischen Scanner (z.B. M2T, Fa. General Scanning ) zu verwenden. ein solcher Scanner gestattet auch eine kurze Phasenstellzeit von wenigen Millisekunden. Um die Phasenstabilität zu optimieren, wird der Scanner elektronisch über einen geschlossenen Regelkreis angesteuert.

Zusätzlich kann eine SW-Korrektur von Phaseninstabilitäten durch Messung der Phasen und anschließende Approximation mit einer Sinusfunktion nach dem im folgenden beschriebenen Verfahren durchgeführt werden.

Während in Gleichung 7-9 von einer exakten Verschiebung der projizierten Struktur um jeweils ein N-tel der Periode ausgegangen wird, läßt sich die Modulationstiefe auch ermitteln, wenn die Intensität bei drei oder mehr nahezu beliebigen Positionen aufgenommen wird. Zunächst muß dabei der Phasenwinkel  $\varphi$  in Gleichung 1 für alle Positionen der Struktur gemessen werden. Dies kann auf unterschiedliche Weise geschehen:



1. Durch Messung am Mechanischen Stellglied, welches für die Verschiebung der Struktur verantwortlich ist (z.B. Scanner).
2. Durch Bestimmung aus dem aufgenommenen Bild z.B. durch Fouriertransformation oder durch Approximation der aufgenommenen Intensitätswerte mit einer Sinusfunktion.
3. Bestimmung wie unter 2. jedoch mit einem Sensor, der die projizierte Struktur direkt aufnimmt. Dies kann auch dadurch erreicht werden, daß ein optisches Element im Strahlengang angeordnet wird, das die Struktur direkt auf einem Teilbereich des Detektors abbildet, welcher auch zur Aufnahme der Intensitäten von der Probe verwendet wird.

Bei der Bestimmung der Verschiebung der Struktur ist es ausreichend die Verschiebung relativ zur ersten Position zu bestimmen.

Zur Bestimmung der Modulationstiefe betrachten wir N Intensitätswerte die bei N Positionen der Struktur aufgenommen wurden und vergeben in Gleichung 2 für die n-te Position den Index n.

$$I_{x,y}(\varphi_n) = a_{0,x,y} + a_{1,x,y} \cdot \sin(\varphi_n) + b_{1,x,y} \cdot \cos(\varphi_n) \quad \text{Gleichung 20}$$

Die gemessenen Intensitäten  $M_{x,y}(\varphi_n)$  können von den zu erwartenden Intensitäten  $I_{x,y}(\varphi_n)$  abweichen. Zur Approximation kann das Verfahren der kleinsten Fehlerquadrate verwendet werden:

$$\sum_{n=0}^{N-1} (M_{x,y}(\varphi_n) - I_{x,y}(\varphi_n))^2 \rightarrow \min \quad \text{Gleichung 21}$$

Die Ableitungen nach  $a_{0,x,y}$ ,  $a_{1,x,y}$  und  $b_{1,x,y}$  liefern das lineare Gleichungssystem

$$\begin{pmatrix} N & \sum_{n=0}^{N-1} \sin(\varphi_n) & \sum_{n=0}^{N-1} \cos(\varphi_n) \\ \sum_{n=0}^{N-1} \sin(\varphi_n) & \sum_{n=0}^{N-1} \sin^2(\varphi_n) & \sum_{n=0}^{N-1} \sin(\varphi_n) \cos(\varphi_n) \\ \sum_{n=0}^{N-1} \cos(\varphi_n) & \sum_{n=0}^{N-1} \sin(\varphi_n) \cos(\varphi_n) & \sum_{n=0}^{N-1} \cos^2(\varphi_n) \end{pmatrix} \cdot \begin{pmatrix} a_{0,x,y} \\ a_{1,x,y} \\ b_{1,x,y} \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} \sum_{n=0}^{N-1} M_{x,y}(\varphi_n) \\ \sum_{n=0}^{N-1} \sin(\varphi_n) M_{x,y}(\varphi_n) \\ \sum_{n=0}^{N-1} \cos(\varphi_n) M_{x,y}(\varphi_n) \end{pmatrix} \quad \text{Gleichung 22}$$

Das Gleichungssystem ist lösbar für  $N > 2$ . Die Matrix ist nur von den Positionen abhängig und braucht zur Lösung des Systems nur einmal pro Bildsequenz invertiert zu werden. Die Modulationstiefe erhält man dann aus  $a_{1,x,y}$  und  $b_{1,x,y}$  mit Gleichung 5.

Das Verfahren kann in vergleichbarer Weise auch auf die Fälle erweitert werden, wo die projizierte Struktur nicht sinusförmig ist, indem mit einer anderen Funktion approximiert wird.

### 1.3.5 Minimieren des Bleichens der Farbstoffe in Fluoreszenzanwendungen

Um den Effekt des Ausbleichens von Farbstoffen zu minimieren, wird die zu untersuchende Probe idealerweise nur während der Kamera-Belichtungszeit beleuchtet. Der Einfluß einer Dauerbelichtung während der Aufnahme von z.B. drei einzelnen Phasenbildern zur erzeugung

eines optischen Schnittes wird um so größer, je kürzer die Belichtungszeit im Vergleich zur Datenübertragungszeit (von der Kamera zum PC) gewählt werden kann und je höher die Belichtungsintensität gewählt wird. Typische Datenübertragungszeiten für Digitale CCD-Kameras liegen z.Zt im Bereich von etwa 10 – 100 ms bei einer Auflösung von etwa 512x512 Pixel/Bild. Bei Belichtungszeiten in diesem Zeitbereich wird bereits die Probe unter Umständen signifikant beschädigt, ohne die Fluoreszenzemission während der Datenübertragung zu nutzen. Um die Probe möglichst schonend zu behandeln ist es wünschenswert einen schnellen beleuchtungsseitigen Verschuß (Shutter) zu integrieren. Eine einfache Lösung besteht in der Verwendung von elektromagnetischen „Uniblitz“ Shuttern der Fa. Vincent Associates, 1255 University Avenue, Rochester, New York 14607. Eine alternative Lösung besteht in der in Abbildung 5 dargestellten Anordnung. Der dargestellte Shutter besteht aus einem Planspiegel (22), dessen Winkel zur optischen Achse mittels z.B. Scanner eingestellt werden kann, einem nachfolgenden Prisma (21) und einem feststehenden Spiegel (23). Durch diese Kombination kann eine „offene“ oder Durchgangsstellung (Strahlengang mit durchgezogenen Linien) und eine „geschlossene“ oder Verschuß-Stellung (Strahlengang gestrichelt) realisiert werden. Die möglichen Schaltzeiten sind abhängig von dem verwendeten Scanner und der Größe des Planspiegels. Typische Schaltzeiten für Spiegeldurchmesser von ca. 25 mm liegen bei etwa 1ms.

### 1.3.6 Algorithmus zur Minimierung von Artefakten durch Bleichen von Farbstoffen in Fluoreszenzanwendungen

Um Bleichen von Farbstoffen zu kompensieren kann bei einem linearen Ansatz die folgende Reihenfolge für die Aufnahme der Phasenbilder verwendet werden

$$I_{x,y}(0), I_{x,y}\left(\frac{2\pi}{3}\right), I_{x,y}\left(\frac{4\pi}{3}\right), I_{x,y}\left(\frac{4\pi}{3}\right), I_{x,y}\left(\frac{2\pi}{3}\right), I_{x,y}(0)$$

Die Reihenfolge der oben dargestellten Sequenz steht dabei für die zeitliche Reihenfolge der Acquisition der Phasenbilde. Aus den jeweils 3 Phasenbildern :

$$I_{x,y}(0), I_{x,y}\left(\frac{2\pi}{3}\right), I_{x,y}\left(\frac{4\pi}{3}\right)$$

und

$$I_{x,y}\left(\frac{4\pi}{3}\right), I_{x,y}\left(\frac{2\pi}{3}\right), I_{x,y}(0)$$

sind z.B. jeweils die optischen Schnitte unter Verwendung der Gleichung 10 zu berechnen und der Mittelwert zu bilden.

$$\frac{I_{sectioned\ xy}}{2} = \frac{I_{sectioned\ xy}\left(0, \frac{2\pi}{3}, \frac{4\pi}{3}\right) + I_{sectioned\ xy}\left(\frac{4\pi}{3}, \frac{2\pi}{3}, 0\right)}{2} \quad \text{Gleichung 24}$$

Damit wird in einer linearen Näherung des Bleichvorgangs die Artefaktbildung im berechneten optischen Schnittbild minimiert.

## 1.4 Gittererkennung, Modulerkennung

Um ein einfaches mechanisches Umschalten von konventioneller Mikroskopaufnahme zur strukturierten Beleuchtung und umgekehrt zu ermöglichen, ist es vorteilhaft eine freie Position mit einer Leuchtfeldblende mit dem Gitter zu kombinieren. Diese Situation ist in Abbildung 8 dargestellt.

Da bei der strukturierten Beleuchtung die Tiefendiskriminierung u.a. von der effektiven Gitterfrequenz abhängt diese wiederum durch die beleuchtungsseitige Gesamt- Vergrößerung (Tubuslinse + Kondensor bzw. Objektiv) bestimmt wird, ist es vorteilhaft eine einfache Möglichkeit zu schaffen um die bei der Projektionverwendeten Gitter auswechseln zu können

Um Fehler bei falsch eingesetzten Gittern zu vermeiden ist es vorteilhaft z.B: die mechanisch gefaßten Gitter zu codieren. Dazu kann die in Abbildung 12 dargestellte Codierung verwendet werden.

## 2 Ansprüche

### Anspruch 1

Eine Anordnung zur Erhöhung der Tiefendiskriminierung optisch abbildender Systeme durch

- Projektion einer periodischen Struktur in das Objekt
- Detektion von  $N$ ,  $N \geq 3$  strukturierten Bildern des Objekts mit Phasenwinkeln

$$\varphi_n = n \frac{2\pi}{N}, \quad n = 0..N-1 \text{ der projizierten Struktur}$$

- Erzeugung optischer Schnitte durch Auswerten der Bilder mit den  $N$  unterschiedlicher Phasenwinkeln mit Gleichung 5b

### Anspruch 2

Eine Anordnung zur Erhöhung der Tiefendiskriminierung optisch abbildender Systeme durch

- Projektion einer periodischen Struktur in das Objekt
- Detektion von 3 strukturierten Bildern des Objekts mit den 3 Phasenwinkeln  $0^\circ, 120^\circ, 240^\circ$  der projizierten Struktur
- Erzeugung optischer Schnitte durch Auswerten der 3 Bilder mit unterschiedlicher Phase mit Gleichung 10

### Anspruch 3

Eine Anordnung zur Erhöhung der Tiefendiskriminierung optisch abbildender Systeme durch

- Projektion einer periodischen Struktur in das Objekt
- Detektion von 4 strukturierten Bildern des Objekts mit den 4 Phasenwinkeln  $0^\circ, 90^\circ, 180^\circ, 270^\circ$  der projizierten Struktur
- Erzeugung optischer Schnitte durch Auswerten der 4 Bilder mit unterschiedlicher Phasen mit Gleichung 11

### Anspruch 4

Eine Anordnung zur Erhöhung der Tiefendiskriminierung optisch abbildender Systeme durch Projektion einer periodischen Struktur in das Objekt durch

- Projektion einer periodischen Struktur in das Objekt
- Detektion von  $N$ ,  $N \geq 3$  strukturierten Bildern des Objekts mit Phasenwinkeln

$$\varphi_n = n \frac{2\pi}{N}, \quad n = 0..N-1 \text{ der projizierten Struktur}$$

- Berechnung strukturfreier Bilder mit Gleichung 7, wobei das damit berechnete Bild des Objekts keine erhöhte Tiefendiskriminierung aufweist.

### Anspruch 5

Eine Anordnung zur Erhöhung der Tiefendiskriminierung optisch abbildender Systeme durch Projektion einer periodischen Struktur in das Objekt durch

- Projektion einer periodischen Struktur in das Objekt
- Detektion von 2 strukturierten Bildern des Objekts mit Phasenwinkeln von  $0^\circ$  und  $180^\circ$
- Berechnung eines synthetischen Bildes mit Gleichung 12c, wobei das damit berechnete Bild des Objekts keine erhöhte Tiefendiskriminierung aufweist.

#### Anspruch 6

Eine Anordnung zur Erhöhung der Tiefendiskriminierung optisch abbildender Systeme durch Projektion einer periodischen Struktur in das Objekt durch

- Projektion einer periodischen Struktur in das Objekt
- Detektion von 4 strukturierten Bildern des Objekts mit Phasenwinkeln von  $0^\circ, 90^\circ, 180^\circ$  und  $270^\circ$
- Berechnung eines synthetischen Bildes mit Gleichung 7, wobei das damit berechnete Bild des Objekts keine erhöhte Tiefendiskriminierung aufweist.

#### Anspruch 7

Eine Anordnung zur Erhöhung der Tiefendiskriminierung optisch abbildender Systeme durch Projektion einer periodischen Struktur in das Objekt durch

- Projektion einer periodischen Struktur in das Objekt
- Detektion von 3 strukturierten Bildern des Objekts mit Phasenwinkeln von  $0^\circ, 120^\circ$  und  $240^\circ$
- Berechnung eines synthetischen Bildes mit Gleichung 12a, wobei das damit berechnete Bild des Objekts keine erhöhte Tiefendiskriminierung aufweist.

#### Anspruch 8

Eine Anordnung zur Erhöhung der Tiefendiskriminierung optisch abbildender Systeme durch Projektion einer periodischen Struktur in das Objekt durch

- Projektion einer periodischen Struktur in das Objekt
- Detektion von 4 strukturierten Bildern des Objekts mit Phasenwinkeln von  $0^\circ, 90^\circ, 180^\circ$  und  $270^\circ$
- Berechnung eines synthetischen Bildes mit Gleichung 12b, wobei das damit berechnete Bild des Objekts keine erhöhte Tiefendiskriminierung aufweist.

#### Anspruch 9

Eine Anordnung zur Erhöhung der Tiefendiskriminierung optisch abbildender Systeme laut Anspruch 1-9 wobei die Ortsphase der projizierten Struktur durch eine um eine Achse senkrecht zur optischen Achse drehbare planparallele Platte eingestellt wird.

#### Anspruch 10

Eine Anordnung nach Anspruch 9 wobei die Ortsphase durch einen galvanischen Scanner eingestellt wird.

#### Anspruch 11

Eine Anordnung nach Anspruch 1-10 wobei zusätzlich die Struktur in axialer Richtung bewegt werden kann.

**Anspruch 12**

Eine Anordnung nach Anspruch 1-10 wobei zusätzlich die „beleuchtungsseitige Tubuslinse“ in axialer Richtung bewegt werden kann.

**Anspruch 13**

Eine Anordnung nach Anspruch 11 -12 mit motorischer Bewegung.

**Anspruch 14**

Eine Anordnung nach Anspruch 11 mit motorischer Bewegung entsprechend Abbildung 7a,7b.

**Anspruch 15**

Eine Anordnung nach Anspruch 11 mit motorischer Bewegung eines optischen Keils entsprechend Abbildung 9.

**Anspruch 16**

Eine Anordnung nach Anspruch 1-15 in Kombination mit der Messung der Lichtintensität mit einem lichtempfindlichen Detektor

**Anspruch 17**

Eine Anordnung nach Anspruch 16 in Kombination mit der Messung der Lichtintensität mit einem lichtempfindlichen Detektor, wobei als lichtempfindlicher Detektor eine Photodiode verwendet wird.

**Anspruch 18**

Eine Anordnung nach Anspruch 16,17 wobei das digitalisierte Signal des lichtempfindlichen Detektors zur Normierung der Bildhelligkeit verwendet wird.

**Anspruch 19**

Eine Anordnung nach Anspruch 18 wobei das digitalisierte Signal des lichtempfindlichen Detektors zur Normierung der Bildhelligkeit unter Verwendung der Gleichung 17 verwendet wird.

**Anspruch 20**

Eine Anordnung nach Anspruch 1-19 wobei die Berechnung tiefendiskriminierter Bilder durch Lösen des durch die Gleichungen 20,21,22 gegebenen Gleichungssystems erhalten wird.

weitere unteransprüche nach einem der vorangehenden Ansprüche:

Verwendung eines automatischen Verschlußes (Shutter)

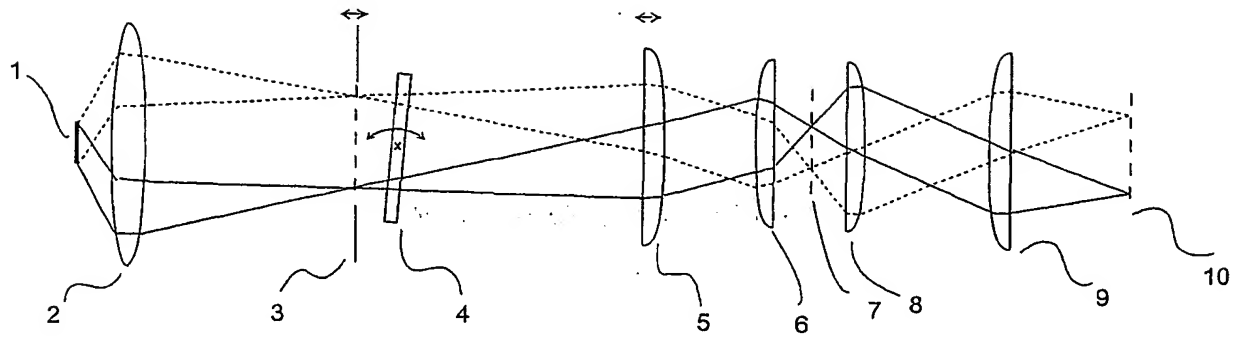
Verwendung eines Shutters nach Abbildung 5

Minimierung von Artefakten durch Anwendung der Mittelung nach Gleichung 24  
Realisierung eines Moduls mit 2 Positionen nach Abbildung 8.  
Codierung der Gitter mit Barcode zur automatischen Erkennung des Gitters  
Codierung der Gitter mit Strichcode zur automatischen Erkennung des Gitters  
Wechselbare Gitter

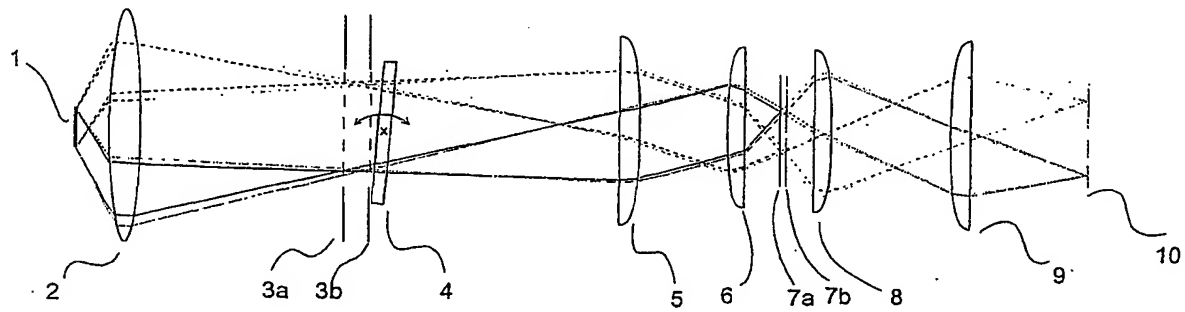
Anwendung bei allen linearen Wechselwirkungen  
Anwendung in der Mikroskopie  
Anwendung in der Mikroskopie im Auflicht  
Anwendung in der Mikroskopie im Auflicht- Hellfeld  
Anwendung in der Mikroskopie im Durchlicht  
Anwendung in der Auflicht-Fluoreszenz Mikroskopie

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

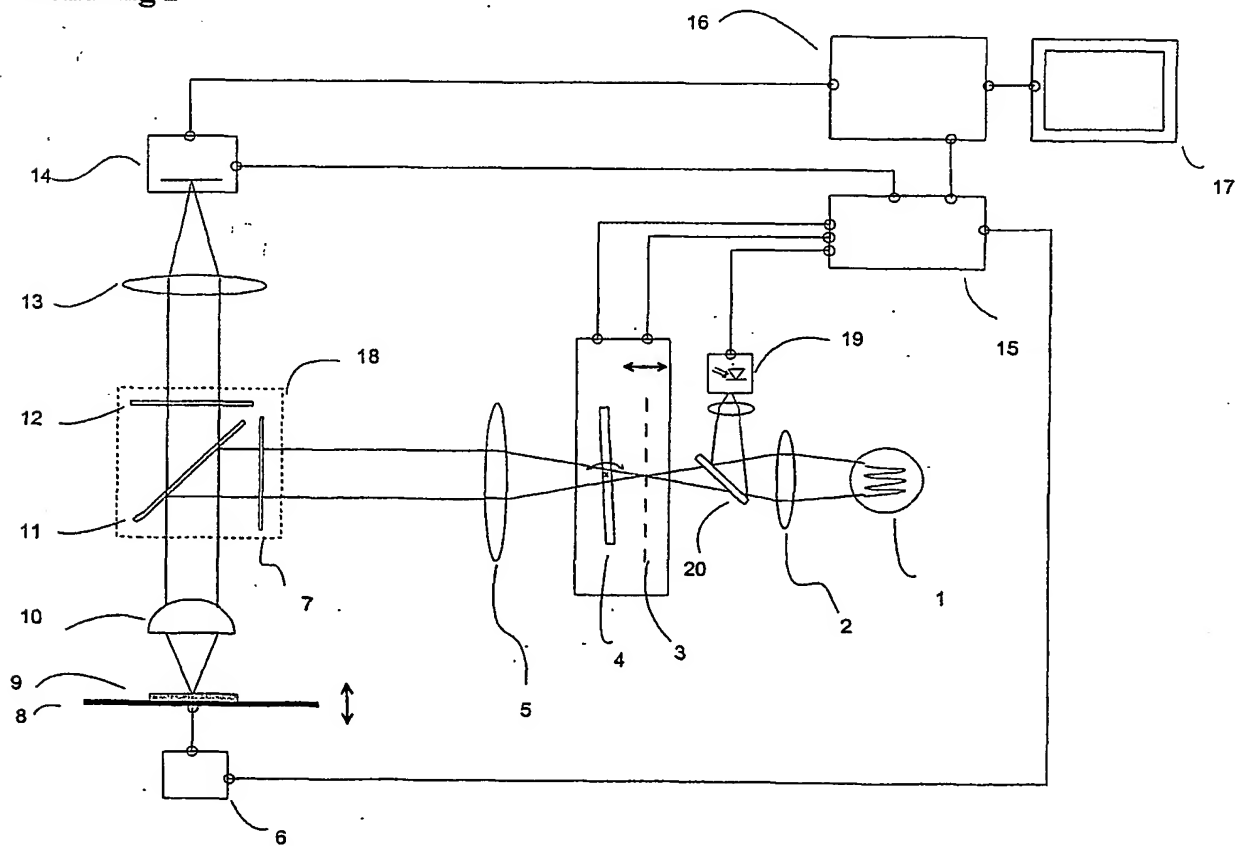




### Abbildung 1



## Abbildung 2



### Abbildung 3

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

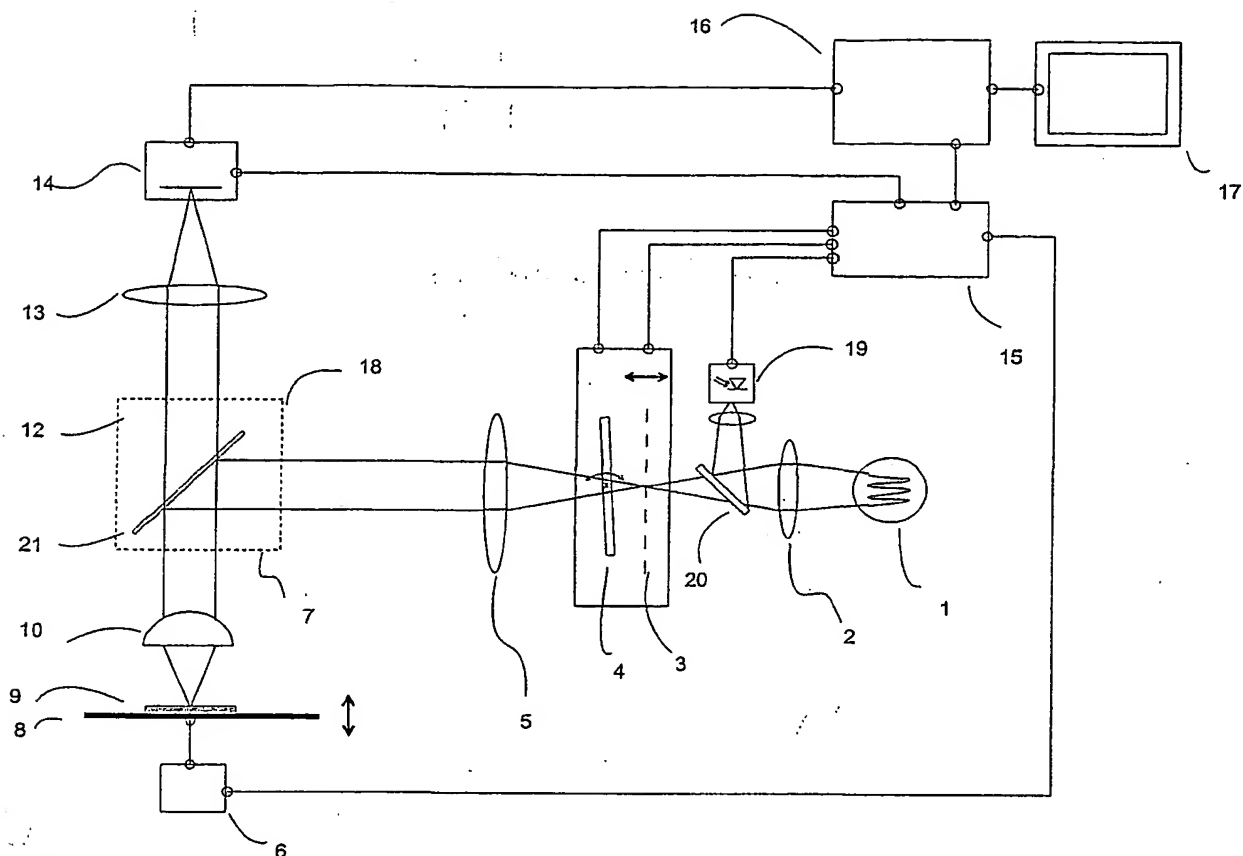


Abbildung 4

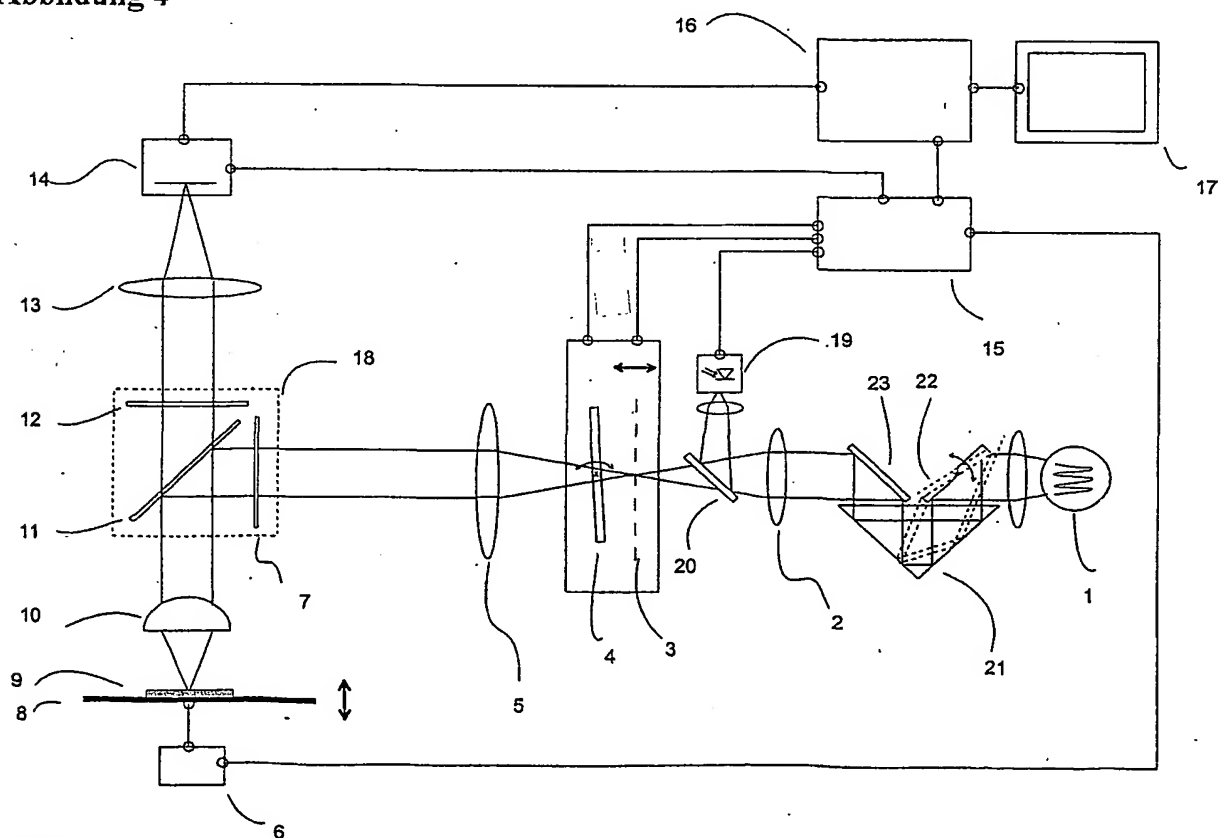


Abbildung 5

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

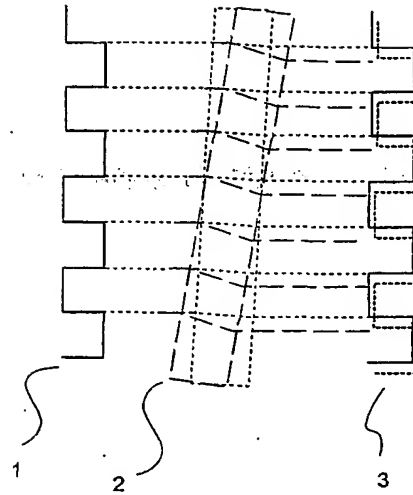


Abbildung 6

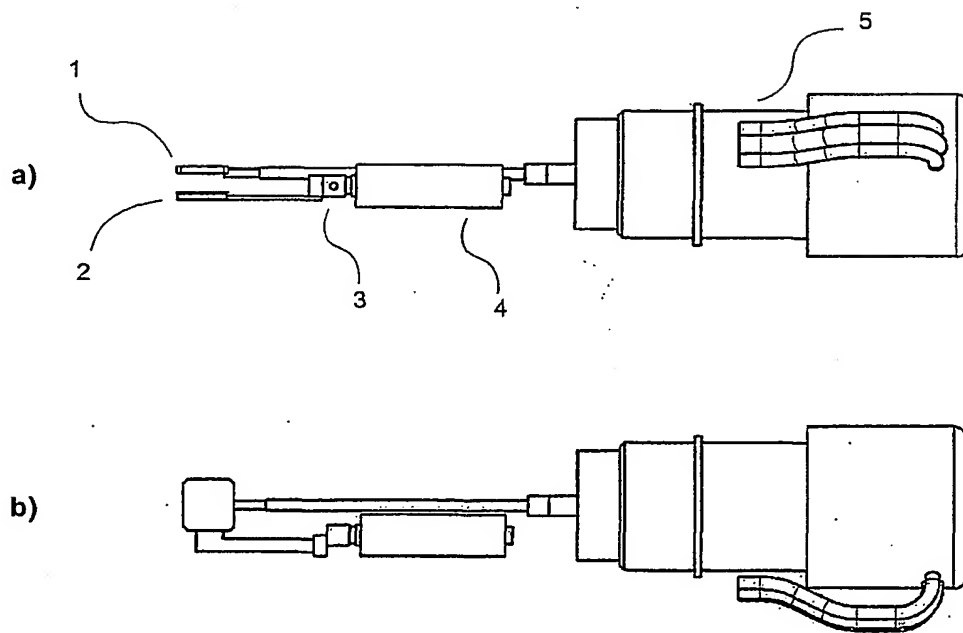


Abbildung 7

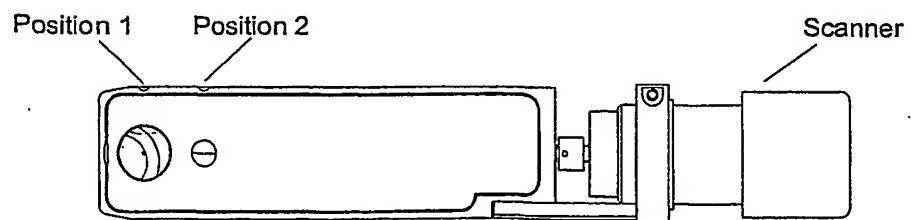


Abbildung 8

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

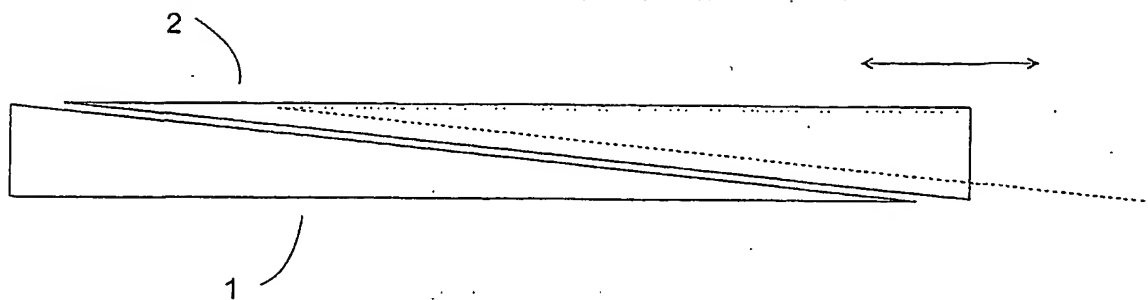


Abbildung 9

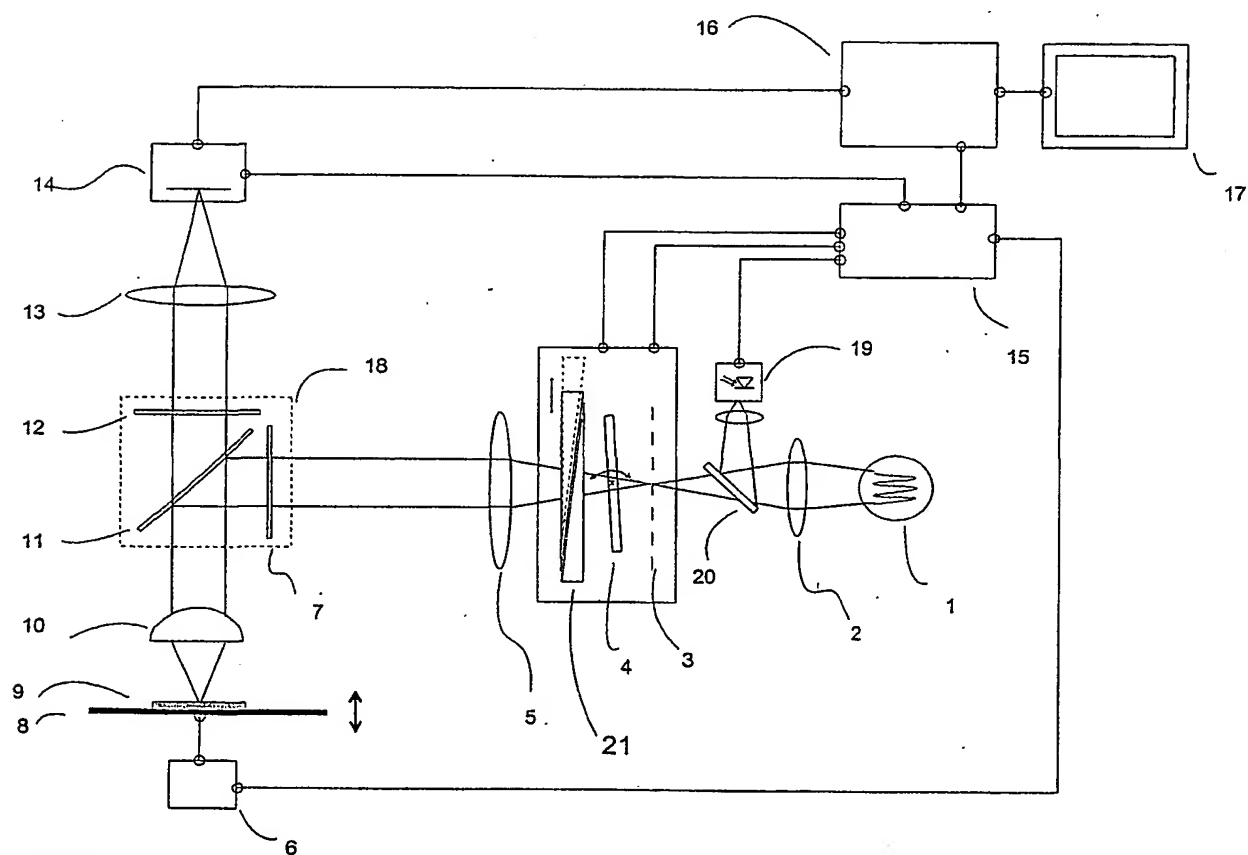


Abbildung 10

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**



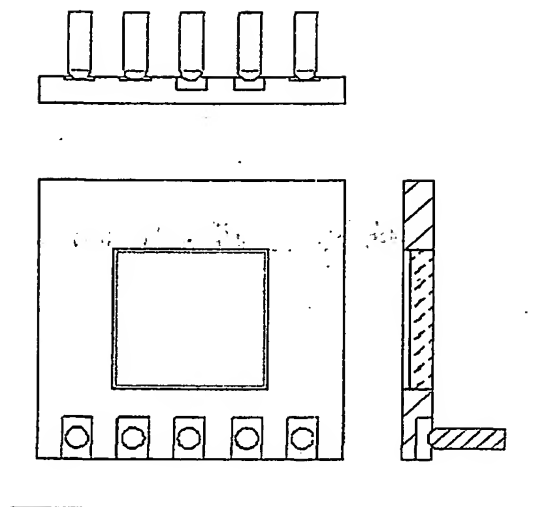


Abbildung 12

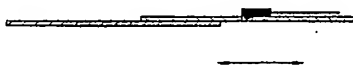


Abbildung 13

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

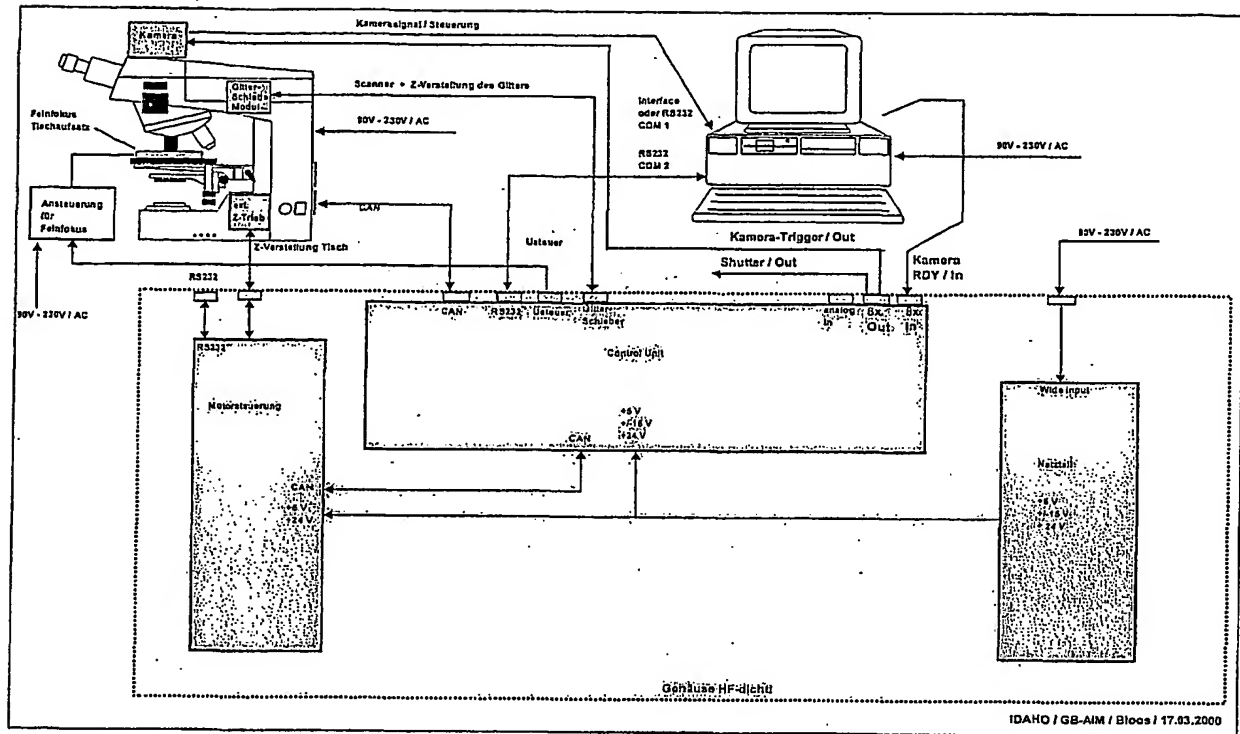
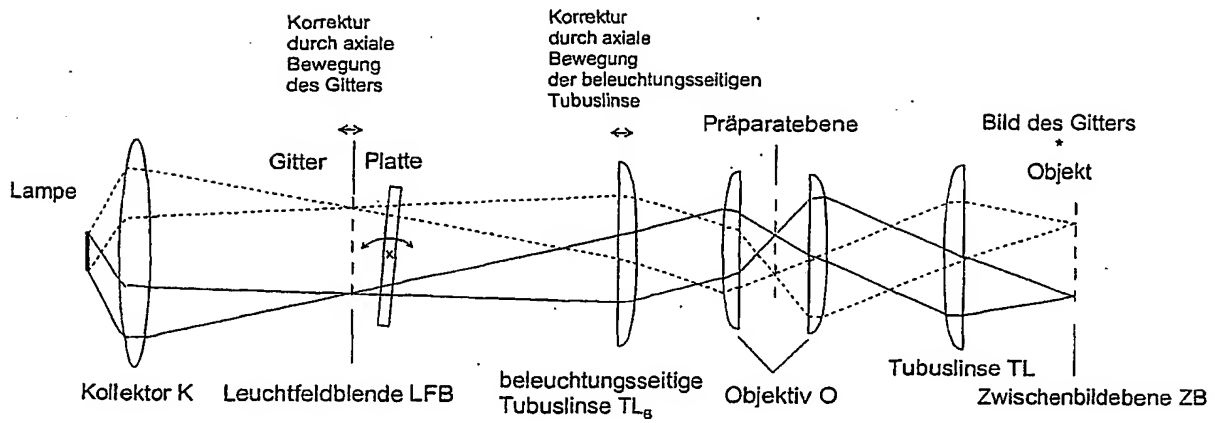


Abbildung 11

**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

zu Fig. 1



**THIS PAGE BLANK (USPTO)**

101089878

(12) NACH DEM VERTRAG **DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG**

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
14. Februar 2002 (14.02.2002)

PCT

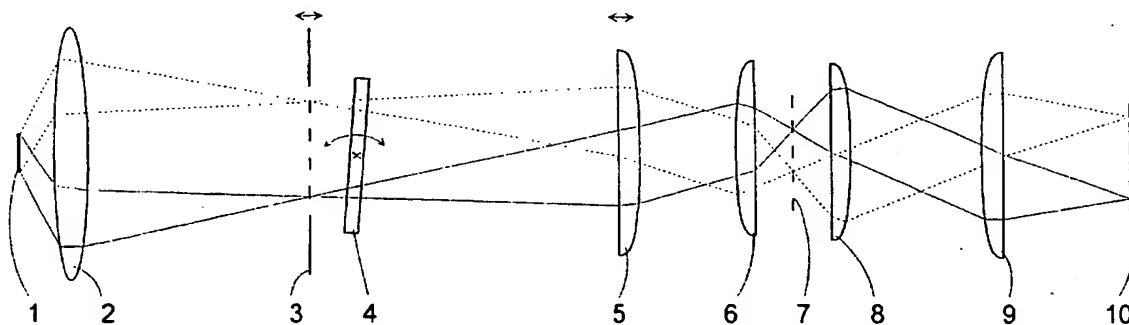
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
**WO 02/12945 A3**

- (51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: **G02B 21/00** (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): **CARL ZEISS JENA GMBH** [DE/DE]; Carl-Zeiss-Promenade 10, 07745 Jena (DE).
- (21) Internationales Aktenzeichen: **PCT/EP01/09049**
- (22) Internationales Anmeldedatum:  
4. August 2001 (04.08.2001) (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): **GERSTNER, Volker** [DE/DE]; Sophienstrasse 30, 07743 Jena (DE). **HECHT, Frank** [DE/DE]; Am Schönblick 19, 99425 Weimar (DE). **LANGE, Ralph** [DE/DE]; Liselotte-Hermann-Strasse 26a, 07747 Jena (DE). **BLOOS, Helmut** [DE/DE]; Felix-Auerbach-Str. 20, 07747 Jena (DE).
- (25) Einreichungssprache: **Deutsch**
- (26) Veröffentlichungssprache: **Deutsch**
- (30) Angaben zur Priorität:  
100 38 527.3 8. August 2000 (08.08.2000) **DE** (74) Gemeinsamer Vertreter: **CARL ZEISS JENA GMBH**; Carl-Zeiss-Promenade 10, 07745 Jena (DE).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: **ASSEMBLY FOR INCREASING THE DEPTH DISCRIMINATION OF AN OPTICAL IMAGING SYSTEM**

(54) Bezeichnung: **ANORDNUNG ZUR ERHÖHUNG DER TIEFENDISKRIMINIERUNG OPTISCH ABBILDENDER SYSTEM**



(57) Abstract: The invention relates to a method for increasing the depth of contrast during microscopic imaging. The method and implementation described can be designated as structured illumination, which creates quasi-confocal optical sections. During the implementation of the method, a grid structure, located in the illumination field stop plane of a microscope, the object plane and the TV intermediate-image plane of a microscope are arranged "confocally". This assembly enables the grid structure to be projected into the object plane of the microscope and the object, thus structured, to be reproduced on the TV intermediate-image plane using the following optical system. Optical sections are created by the calculation of the modulation depth of the structured object. The object is reproduced perpendicular to the direction of observation on several focus planes, to achieve a 3-dimensional registration of said object and is detected using an array-detector (e.g. CCD camera). The method and implementation of structured illumination described in this patent can primarily be used in the field of reflection and fluorescent microscopy.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft eine Methode zur Erhöhung des Tiefenkontrasts bei der mikroskopischen Abbildung. Die dargestellte Methode und Realisierung kann als strukturierte Beleuchtung zur Erzeugung quasi-konfokaler optischer Schnitte bezeichnet werden. Bei der Realisierung der Methode werden eine Gitterstruktur, die sich in der Leuchtfeldblende eines Mikroskops befindet, die Objektebene und die TV-Zwischen-bildebene eines Mikroskops "konfokal" angeordnet. Durch diese Anordnung wird die Gitterstruktur in die Objektebene des Mikroskops projiziert und das derart strukturierte Objekt über die nachfolgende Optik in die TV-Zwischenbildebene des Mikroskops abgebildet. Durch Berechnung der Modulationstiefe des strukturierten Objekts werden optische Schnitte generiert.

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

WO 02/12945 A3



(81) Bestimmungsstaaten (*national*): JP, US.

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen  
Recherchenberichts:

10. Mai 2002

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

Veröffentlichungsdatum der geänderten Ansprüche:

6. Juni 2002

**Veröffentlicht:**

- mit internationalem Recherchenbericht
- mit geänderten Ansprüchen

*Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.*

Eine 3-dimensionale Erfassung des Objekts wird dadurch realisiert, dass das Objekt in mehreren Schärfestufen senkrecht zur Beobachtungsrichtung abgebildet und mittels Array-Detektor (z.B. CCD-Kamera) detektiert wird. Vorrangig kann die hier dargestellte Methode und Realisierung der strukturierten Beleuchtung in der Reflexions- und Fluoreszenzmikroskopie eingesetzt werden.



**GEÄNDERTE ANSPRÜCHE**

[beim Internationalen Büro am 11. März 2002 (11.03.02) eingegangen;  
neue Ansprüche 21-30 hinzugefügt; alle weiteren Ansprüche unverändert (2 Seiten)]

12.

Eine Anordnung nach einem der Ansprüche 1-10 wobei zusätzlich die "beleuchtungsseitige Tubuslinse" in axialer Richtung bewegt wird.

13.

Eine Anordnung nach Anspruch 11 – 12 , mit motorischer Bewegung.

14.

Eine Anordnung nach Anspruch 11 mit motorischer Bewegung entsprechend Abbildung 7a,7b.

15.

Eine Anordnung nach Anspruch 11 mit motorischer Bewegung eines optischen Keils entsprechend Abbildung 9.

16.

Eine Anordnung nach Anspruch 1-15 in Kombination mit der Messung der Lichtintensität mit einem lichtempfindlichen Detektor

17.

Eine Anordnung nach Anspruch 16 in Kombination mit der Messung der Lichtintensität mit einem lichtempfindlichen Detektor, wobei als lichtempfindlicher Detektor eine Photodiode verwendet wird.

18.

Eine Anordnung nach Anspruch 16,17 wobei das digitalisierte Signal des lichtempfindlichen Detektors zur Normierung der Bildhelligkeit verwendet wird.

19.

Eine Anordnung nach Anspruch 18 wobei das digitalisierte Signal des lichtempfindlichen Detektors zur Normierung der Bildhelligkeit unter Verwendung der Gleichung 17 verwendet wird.

20.

Eine Anordnung nach einem der Ansprüche 1-19 wobei die Berechnung tiefendiskriminierter Bilder durch Lösen des durch die Gleichungen 20,21,22 gegebenen Gleichungssystems erhalten wird.

21.

Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche,  
wobei zur Kontrolle der Belichtungszeit ein ansteuerbarer Verschuß vorgesehen ist.

22.

Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei eine Minimierung von Artefakten durch Anwendung der Mittelung nach Gleichung 24 erfolgt.

23.

Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei die periodische Struktur in einem einschiebbaren Modul vorgesehen ist.

24.

Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei die periodische Struktur auswechselbar ist.

25.

Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche, wobei eine Codierung der periodischen Struktur mit Strichcode zur automatischen Erkennung vorgesehen ist.

26.

Anordnung nach einem der vorangehenden Ansprüche, gekennzeichnet durch ihre Anwendung in der Mikroskopie.

27.

Anordnung nach Anspruch 27, gekennzeichnet durch ihre Anwendung in der Mikroskopie im Auflicht.

28.

Anordnung nach Anspruch 27, gekennzeichnet durch ihre Anwendung in der Mikroskopie im Auflicht- Hellfeld.

29.

Anordnung nach Anspruch 27, gekennzeichnet durch ihre Anwendung in der Mikroskopie im Durchlicht.

30.

Anordnung nach Anspruch 27, gekennzeichnet durch ihre Anwendung in der Auflicht-Fluoreszenz Mikroskopie.

(12) NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES  
PATENTWESENS (PCT) VERÖFFENTLICHTE INTERNATIONALE ANMELDUNG

(19) Weltorganisation für geistiges Eigentum  
Internationales Büro



(43) Internationales Veröffentlichungsdatum  
14. Februar 2002 (14.02.2002)

PCT

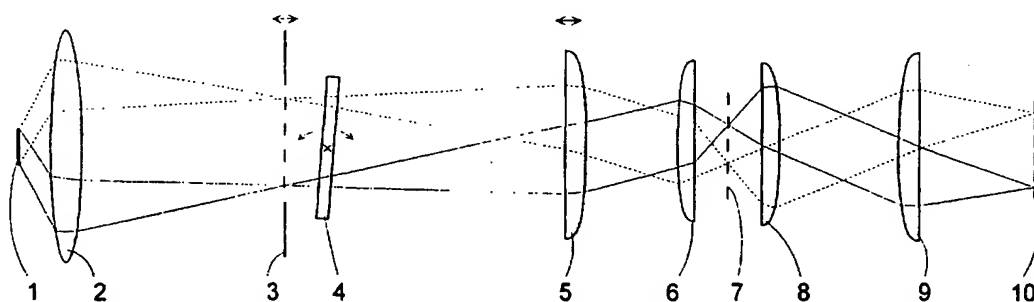
(10) Internationale Veröffentlichungsnummer  
WO 02/12945 A3

- (51) Internationale Patentklassifikation<sup>7</sup>: G02B 21/00 (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten mit Ausnahme von US): CARL ZEISS JENA GMBH [DE/DE]; Carl-Zeiss-Promenade 10, 07745 Jena (DE).
- (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/EP01/09049
- (22) Internationales Anmeldedatum: 4. August 2001 (04.08.2001) (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): GERSTNER, Volker [DE/DE]; Sophienstrasse 30, 07743 Jena (DE). HECHT, Frank [DE/DE]; Am Schönblick 19, 99425 Weimar (DE). LANGE, Ralph [DE/DE]; Liselotte-Hermann-Strasse 26a, 07747 Jena (DE). BLOOS, Helmut [DE/DE]; Felix-Auerbach-Str. 20, 07747 Jena (DE).
- (25) Einreichungssprache: Deutsch
- (26) Veröffentlichungssprache: Deutsch
- (30) Angaben zur Priorität: 100 38 527.3 8. August 2000 (08.08.2000) DE (74) Gemeinsamer Vertreter: CARL ZEISS JENA GMBH; Carl-Zeiss-Promenade 10, 07745 Jena (DE).

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]

(54) Title: ASSEMBLY FOR INCREASING THE DEPTH DISCRIMINATION OF AN OPTICAL IMAGING SYSTEM

(54) Bezeichnung: ANORDNUNG ZUR ERHÖHUNG DER TIEFENDISKRIMINIERUNG OPTISCH ABBILDENDER SYSTEM



(57) Abstract: The invention relates to a method for increasing the depth of contrast during microscopic imaging. The method and implementation described can be designated as structured illumination, which creates quasi-confocal optical sections. During the implementation of the method, a grid structure, located in the illumination field stop plane of a microscope, the object plane and the TV intermediate-image plane of a microscope are arranged "confocally". This assembly enables the grid structure to be projected into the object plane of the microscope and the object, thus structured, to be reproduced on the TV intermediate-image plane using the following optical system. Optical sections are created by the calculation of the modulation depth of the structured object. The object is reproduced perpendicular to the direction of observation on several focus planes, to achieve a 3-dimensional registration of said object and is detected using an array-detector (e.g. CCD camera). The method and implementation of structured illumination described in this patent can primarily be used in the field of reflection and fluorescent microscopy.

(57) Zusammenfassung: Die Erfindung betrifft eine Methode zur Erhöhung des Tiefenkontrasts bei der mikroskopischen Abbildung. Die dargestellte Methode und Realisierung kann als strukturierte Beleuchtung zur Erzeugung quasi-konfokaler optischer Schnitte bezeichnet werden. Bei der Realisierung der Methode werden eine Gitterstruktur, die sich in der Leuchtfeldblende einer Mikroskops befindet, die Objektebene und die TV-Zwischen-bildebene eines Mikroskops "konfokal" angeordnet. Durch diese Anordnung wird die Gitterstruktur in die Objektebene des Mikroskops projiziert und das derart strukturierte Objekt über die nachfolgende Optik in die TV-Zwischenbildebene des Mikroskops abgebildet. Durch Berechnung der Modulationstiefe des strukturierten Objekts werden optische Schnitte generiert. Eine 3-dimensionale Erfassung

[Fortsetzung auf der nächsten Seite]



(81) Bestimmungsstaaten (*national*): JP, US.

— mit geänderten Ansprüchen

(84) Bestimmungsstaaten (*regional*): europäisches Patent (AT, BE, CH, CY, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE, TR).

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen

Recherchenberichts:

10. Mai 2002

Veröffentlicht:

— mit internationalem Recherchenbericht

Zur Erklärung der Zweibuchstaben-Codes und der anderen Abkürzungen wird auf die Erklärungen ("Guidance Notes on Codes and Abbreviations") am Anfang jeder regulären Ausgabe der PCT-Gazette verwiesen.

des Objekts wird dadurch realisiert, dass das Objekt in mehreren Schärfeebenen senkrecht zur Beobachtungsrichtung abgebildet und mittels Array-Detektor (z.B. CCD-Kamera) detektiert wird. Vorrangig kann die hier dargestellte Methode und Realisierung der strukturierten Beleuchtung in der Reflexions- und Fluoreszenzmikroskopie eingesetzt werden.

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Inter. Application No  
PCT/01/09049

**A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER**  
IPC 7 G02B21/00

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

**B. FIELDS SEARCHED**

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)  
IPC 7 G02B

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practical, search terms used)

EPO-Internal, PAJ

**C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT**

Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	WO 98 45745 A (WILSON TONY ;ISIS INNOVATION (GB); JUSKAITIS RIMVYDAS (GB); NEIL M) 15 October 1998 (1998-10-15) abstract page 9, line 20 -page 10, line 11	1-8, 11-20
Y	figure 1	9,10
Y	US 4 984 893 A (LANGE STEVEN R) 15 January 1991 (1991-01-15) column 2, line 50 -column 3, line 16 figure 1	9,10
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1995, no. 09, 31 October 1995 (1995-10-31) & JP 07 159324 A (SHIMADZU CORP), 23 June 1995 (1995-06-23) abstract	9,10

☐ Further documents are listed in the continuation of box C.

☒ Patent family members are listed in annex.

\* Special categories of cited documents :

- \*A\* document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
- \*E\* earlier document but published on or after the international filing date
- \*L\* document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
- \*O\* document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
- \*P\* document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

- \*T\* later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
- \*X\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
- \*Y\* document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art.
- \* & \* document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

23 January 2002

Date of mailing of the international search report

05/02/2002

Name and mailing address of the ISA  
European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax (+31-70) 340-3016

Authorized officer

Luck, W

# INTERNATIONAL SEARCH REPORT

Information on patent family members

International Application No

PCT/EP 01/09049

Patent document cited in search report		Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9845745	A	15-10-1998	AT 208911 T	15-11-2001
			AU 737617 B2	23-08-2001
			AU 6926498 A	30-10-1998
			DE 69802514 D1	20-12-2001
			EP 0972220 A1	19-01-2000
			WO 9845745 A1	15-10-1998
			GB 2338858 A, B	29-12-1999
			JP 3066874 B2	17-07-2000
			JP 2000506634 T	30-05-2000
US 4984893	A	15-01-1991	NONE	
JP 07159324	A	23-06-1995	NONE	

# INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Inter. Aktenzeichen

PCT/SA/210 1/09049

**A. KLASSIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTANDES**  
IPK 7 G02B21/00

Nach der Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen Klassifikation und der IPK

## B. RECHERCHIERTE GEBIETE

Recherchierte Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssymbole)

IPK 7 G02B

Recherchierte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen, soweit diese unter die recherchierten Gebiete fallen

Während der internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank (Name der Datenbank und evtl. verwendete Suchbegriffe)

EPO-Internal, PAJ

## C. ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN

Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 98 45745 A (WILSON TONY ; ISIS INNOVATION (GB); JUSKAITIS RIMVYDAS (GB); NEIL M) 15. Oktober 1998 (1998-10-15) abstract Seite 9, Zeile 20 -Seite 10, Zeile 11	1-8, 11-20
Y	Abbildung 1	9,10
Y	US 4 984 893 A (LANGE STEVEN R) 15. Januar 1991 (1991-01-15) Spalte 2, Zeile 50 -Spalte 3, Zeile 16 Abbildung 1	9,10
A	PATENT ABSTRACTS OF JAPAN vol. 1995, no. 09, 31. Oktober 1995 (1995-10-31) & JP 07 159324 A (SHIMADZU CORP), 23. Juni 1995 (1995-06-23) Zusammenfassung	9,10



Weitere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu entnehmen



Siehe Anhang Patentfamilie

\* Besondere Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen :

- \*A\* Veröffentlichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, aber nicht als besonders bedeutsam anzusehen ist
- \*E\* älteres Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen Anmeldedatum veröffentlicht worden ist
- \*L\* Veröffentlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweifelhaft erscheinen zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer anderen im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden soll oder die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie ausgeführt)
- \*O\* Veröffentlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung, eine Benutzung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht
- \*P\* Veröffentlichung, die vor dem internationalen Anmeldedatum, aber nach dem beanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist

\*T\* Spätere Veröffentlichung, die nach dem internationalen Anmeldedatum oder dem Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist und mit der Anmeldung nicht kollidiert, sondern nur zum Verständnis des der Erfindung zugrundeliegenden Prinzips oder der ihr zugrundeliegenden Theorie angegeben ist

\*X\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann allein aufgrund dieser Veröffentlichung nicht als neu oder auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden

\*Y\* Veröffentlichung von besonderer Bedeutung; die beanspruchte Erfindung kann nicht als auf erfinderischer Tätigkeit beruhend betrachtet werden, wenn die Veröffentlichung mit einer oder mehreren anderen Veröffentlichungen dieser Kategorie in Verbindung gebracht wird und diese Verbindung für einen Fachmann naheliegend ist

\*G\* Veröffentlichung, die Mitglied derselben Patentfamilie ist

Datum des Abschlusses der internationalen Recherche

23. Januar 2002

Absendedatum des internationalen Recherchenberichts

05/02/2002

Name und Postanschrift der Internationalen Recherchenbehörde  
Europäisches Patentamt, P.B. 5818 Patentlaan 2  
NL - 2280 HV Rijswijk  
Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,  
Fax: (+31-70) 340-3016

Bevollmächtigter Bediensteter

Luck, W

# INTERNATIONALE RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veröffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehören

Internationales Aktenzeichen

PCT/EP 01/09049

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der Veröffentlichung	Mitglied(er) der Patentfamilie	Datum der Veröffentlichung
WO 9845745	A	15-10-1998	AT 208911 T 15-11-2001
		AU 737617 B2 23-08-2001	
		AU 6926498 A 30-10-1998	
		DE 69802514 D1 20-12-2001	
		EP 0972220 A1 19-01-2000	
		WO 9845745 A1 15-10-1998	
		GB 2338858 A ,B 29-12-1999	
		JP 3066874 B2 17-07-2000	
		JP 2000506634 T 30-05-2000	
US 4984893	A	15-01-1991	KEINE
JP 07159324	A	23-06-1995	KEINE